



Perception des acides gras chez *Drosophila melanogaster* : plasticité et conséquences métaboliques

Justin Flaven-Pouchon

► To cite this version:

Justin Flaven-Pouchon. Perception des acides gras chez *Drosophila melanogaster* : plasticité et conséquences métaboliques. Biochimie [q-bio.BM]. Université de Bourgogne, 2013. Français. NNT : 2013DIJOS069 . tel-01089792

HAL Id: tel-01089792

<https://theses.hal.science/tel-01089792>

Submitted on 2 Dec 2014

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Université de Bourgogne

UFR Science de la vie, de la Terre et de l'Environnement

THESE

Pour obtenir le grade de
Docteur de l'Université de Bourgogne
En Sciences Biologiques

Par

Justin Flaven-Pouchon

Soutenue le 2 Décembre 2013

Perception des acides gras chez *Drosophila melanogaster* : Plasticité et conséquences métaboliques

Jury :

Emmanuelle Jacquin-Joly	Directrice de recherche INRA, PISC de Versailles	Rapporteur
Frédéric Mery	Chargé de recherche CNRS, LEGS de Gif-sur-Yvettes	Rapporteur
Laurent Soustelle	Chargé de recherche à l'INSERM, IGF de Montpellier	Examineur
Jean-François Ferveur	Directeur de recherche CNRS, CSGA de Dijon	Examineur
Frédéric Marion-Poll	Professeur AgroParisTech, LEGS de Gif-sur-Yvettes	Examineur
Michel Narce	Professeur des universités, Université de Bourgogne	Président du jury
Claude Everaerts	Chargé de recherche CNRS, CSGA de Dijon	Directeur de thèse
Jean-Pierre Farine	Chargé de recherche CNRS, CSGA de Dijon	Co-encadrant

Remerciements

Je tiens tout particulièrement à remercier mes encadrants. Mon directeur de thèse, Claude Everaerts, pour sa patience et son encadrement, ses compétences et sa vivacité d'esprit ainsi que pour son esprit de statisticien qui nous fait souvent défaut. Jean-Pierre Farine, pour ses doigts de fée, ses conseils et son esprit de chromatographe en phase gazeuse. Je remercie également Jean-François Ferveur de m'avoir accueilli au sein de son laboratoire et de m'avoir conseillé pendant trois ans avec son enthousiasme, sa rigueur et son expertise. Je ne remerciais sans doute jamais assez ces trois-là.

Je remercie également mes rapporteurs et examinateurs : Frédéric Mery, Emmanuelle Jacquinjolly, Michel Narce, Laurent Soustelle et Frédéric Marion-Poll pour avoir accepté de juger mon travail et m'avoir conseillé durant ces trois ans. Un clin d'œil particulier à Fred pour son amitié et son encadrement quand j'étais en Master.

Je remercie également Dehbia Abed-Veillard, pour ses conseils, son aide pour m'intégrer à L'UFR, pour quelques manips qui n'ont pas été de tout repos et enfin pour nos échanges culinaires. Je remercie également Jean-Phi pour ses nombreux conseils, son expertise, sa pédagogie en matière de jeu de GO comme de Biocell. Je remercie aussi vivement François Bousquet, pour ses conseils en matière de génétique, nos pauses cigarettes avec discussions scientifiques et tant d'autres encore. Il faut vraiment qu'on arrête de fumer ! Je remercie aussi Yaël Grosjean, pour ses conseils en tout genre, son esprit critique et sa bonne humeur.

Un merci tout particulier à Alex, pour ton amitié, ta joie de vivre, pour ton aide et les week-ends passés ensemble au Labo et tous nos délires. Ein grosse danke für Anna, die, meine liebbling deutsche-polo mädchen ist! Thanks for the science, your friendship. Merci à Anne-Sophie de m'avoir accueilli dans son bureau. Merci pour les moments passés en ta compagnie et pour être la pionnière de la perception des AGs chez la Drosophile !

Merci à tous les gens du Labo pour leur effort, leur aide et leur disponibilité : Serge, Jérôme, José, Isa, Martine, Stéphane et j'en oublie... sans qui rien ne serait possible. Merci aux stagiaires qu'on a tôt fait d'oublier mais dont les manips et l'aide nous sont précieuses. Un merci tout particulier à Thibault Garcia pour sa curiosité et son sérieux.

Je remercie toutes les personnes précédemment citées ou que j'aurais pu oublier pour m'avoir supporté pendant trois ans... C'est un tour de force !

Enfin, je remercie évidemment ma famille (qui s'est moquée de mes mouches et de moi

pendant trois ans, je tiens à le dire). Sans elle, cela n'aurait pas été pareil et je m'excuse d'avoir passé tous ces week-ends avec des mouches mais je vous assure qu'elles en valent le coût (à terme). Et enfin, je remercie Ludo qui a dû me supporter pendant ma période de rédaction et qui n'a pas fini d'en baver.

Mes remerciements vont aussi à l'Université de Bourgogne, au CSGA, au CNRS et à l'INRA, organismes desquels nous dépendons de près ou de loin.

Avec une pensée pour les dizaines de milliers de drosophiles dont la vie s'est achevée précocement pour permettre cette étude.

Table des matières

Remerciements.....	3
<i>Table des figures</i>	8
Liste des abréviations	8
INTRODUCTION	11
La perception des acides gras et sa plasticité : quels enjeux ?	11
Le métabolisme lipidique des drosophiles	13
Les besoins en acides gras et en stérols	13
Digestion et absorption	14
Transport des AGs dans l'organisme	15
Stockage des AGs et mobilisation	16
Le contrôle hormonal du métabolisme des AGs dans le tissu adipeux / corps gras.....	16
Biosynthèse des acides gras	17
Percevoir le gras : pourquoi pas ?	19
Perception chimio-sensorielle : Mammifères versus Insectes	20
La Perception des acides gras est multi-sensorielle chez les mammifères.....	25
Réponses envers les acides gras chez les insectes	26
Plasticité phénotypique : quel intérêt pour l'individu ?.....	27
Plasticité intra-individuelle	27
Evolution de la plasticité et sélection.....	28
Plasticité des préférences envers les acides gras	28
MATÉRIELS ET MÉTHODES	31
Les mouches	31
Les milieux d'élevage.....	32
Les procédures d'exposition.....	36
Les tests biologiques	32
Les procédures de sélection	36
Importance de l'olfaction dans le choix du site d'oviposition	41

Préférences alimentaires chez l'adulte	43
Représentation des données et analyses statistiques	43
RÉSULTATS	45
1. Exposition permanente sur un milieu enrichi en AG.....	46
A. Exposition à un milieu à 0.5 mg/mL.....	54
B. Exposition à un milieu à 5 mg/mL.....	62
2. Exposition temporaire à un milieu enrichi en AG.....	46
Tests d'oviposition	46
Préférences larvaires	46
Impact d'une exposition transitoire sur la Fitness	50
3. Sélection "adulte"	76
Evolution des préférences d'oviposition	78
Evolution des préférences larvaires	78
Impact sur la Fitness.....	79
4. Sélection "larvaire"	76
5. Importance de l'olfaction dans le choix du site d'oviposition	83
6. Préférences alimentaires des adultes	83
DISCUSSION	84
Préférence envers les AGs : de la larve à l'adulte	84
Sélection sur base des préférences envers les AGs	85
Sélection "adulte" (sur base du comportement ovipositeur) : instabilité des préférences.....	87
Sélection "larvaire" : baisse de l'aversion envers le C18 :0	88
Effets intragénérationnels de l'exposition aux AGs sur les préférences	89
Plasticité du comportement larvaire.....	90
Plasticité du comportement ovipositeur	90
Effets intergénérationnels de l'exposition aux AGs sur les préférences	92
Plasticité du comportement larvaire.....	92
Plasticité du comportement ovipositeur	93

Effets intra- et intergénérationnels des expositions aux AGs sur les traits de vie	94
L'acide stéarique induit des effets transitoires sur les traits de vie des individus	94
Il n'y a pas d'adaptation aux effets délétères de l'acide oléique	95
Plasticité phénotypique et évolution	96
Métabolisme des AG et plasticité.....	97
L'olfaction n'est pas impliquée dans la perception des AGs par les Drosophiles adultes ..	99
Annexe	100
Bibliographie	104

Table des figures

Introduction

Figure 1 Absorption et transport des AGs chez les insectes.....	12
Figure 2 Organisation du système olfactif entre mammifères et insectes.	19
Figure 3 Système chimiosensorielle chez les larves de drosophiles.....	22
Figure 4 Dispositif de test des préférences larvaires.	33
Figure 5 Protocoles d'exposition temporaire.....	35
Figure 6 Processus d'exposition permanente aux milieux enrichis en AGs.....	37
Figure 7 Processus de sélection du comportement d'oviposition.....	38
Figure 8 Processus de sélection larvaire.	40
Figure 9 Dispositif de test de l'implication de la modalité olfactive dans le comportement de ponte.	42
Figure 10 La préférence larvaire envers un AG est affectée spécifiquement par l'exposition à cet AG.....	45
Figure 11 L'exposition transitoire aux 2 AGs affecte spécifiquement le choix du site d'oviposition par la femelle.	47
Figure 12 L'exposition temporaire au C18:0 et au C18:1 affecte différemment la fécondité.	49
Figure 13 L'exposition transitoire aux AGs à 5 mg/mL affecte différemment la mortalité adulte....	51
Figure 14 L'exposition transitoire aux AGs à 5 mg/mL affecte différemment la mortalité adulte....	53
Figure 15 L'exposition permanente à un milieu enrichi en C18:1 à 0.5 mg/mL modifie le comportement d'oviposition au cours des générations.	55
Figure 16 L'exposition au milieu enrichi en C18:1 à 0.5 mg/ml augmente la fécondité.	57
Figure 17 L'exposition permanente au C18:0 (0.5 mg/mL) durant la 1ère génération augmente le temps de développement.	59
Figure 18 Le sex-ratio des adultes n'est pas affecté par une exposition permanente aux milieux enrichis (0.5 mg/mL).	60
Figure 19 L'exposition à un milieu enrichi en C18:0 ou en C18:1 à 0.5 mg/mL influence différemment la mortalité des adultes selon l'AG considéré.	62
Figure 20 L'exposition sur milieu enrichi (5mg/mL) pendant 1 ou 10 générations affecte le choix du site d'oviposition par les femelles.....	63
Figure 21 L'exposition permanente durant une génération à un milieu enrichi en AG (5 mg/mL) suffit à changer les préférences larvaires.	64

Figure 22 Les expositions permanentes aux milieux enrichis en C18:0 ou C18:1 affectent différemment la fécondité en fonction de l'AG et de la durée d'exposition.	66
Figure 23 L'exposition au C18:0 à 5 mg/mL affecte positivement la viabilité embryonnaire mais n'influence pas significativement la survie larvaire.	68
Figure 24 L'exposition permanente au C18:1 à 5 mg/mL augmente la durée du développement pré-imaginal.	69
Figure 25 L'exposition au C18:0 à 5 mg/ml entraîne une augmentation transitoire de la taille des mâles, alors que l'exposition au C18:1 augmente durablement la taille des larves des deux sexes.	71
Figure 26 L'exposition au C18:0 à 5 mg/ml augmente durablement le sex-ratio (F/M) larvaire et adulte.	72
Figure 27 L'exposition au C18:0 à 5 mg/ml augmente durablement le sex-ratio (F/M) larvaire et adulte.	73
Figure 28 Evolution des préférences larvaires de lignées sélectionnées pour leur attirance envers le C18:0 ou le C18:1.	75
Figure 29 Evolution de la préférence d'oviposition pour les AGs chez les lignées sélectionnées sur base de leur comportement ovipositeur.....	77
Figure 30 La sélection sur base du comportement d'oviposition n'a pas d'influence sur les préférences larvaires de la F30.	79
Figure 31 La sélection sur base du comportement d'oviposition n'a pas d'influence sur la fécondité.	80
Figure 32 La sélection sur base du comportement d'oviposition n'a pas d'influence sur la survie des adultes après 30 générations.	80
Figure 33 L'olfaction ne joue pas de rôle déterminant dans l'oviposition.	82
Figure 34 Le milieu enrichi en C18:1 est moins consommé par les mâles et les femelles que le milieu standard.	82
Figure 35 Résidus des lignées issues de la sélection sur le comportement ovipositeur.....	100
Figure 36 La tolérance envers le C18:0 est renforcée par la sélection du comportement larvaire.	101
Figure 37 Expression de SNMP1 chez les larves L3.....	102
Figure 38 La variabilité dans les réponses d'oviposition est diminuée par l'exposition au C18:0 et augmentée par l'exposition au C18 :1.....	103

Liste des abréviations

AG : Acide gras	LDs: Lipid droplets (Gouttelettes lipidiques)
AKH : Hormone adipokinétique	LDLp: Low density lipoprotein
C16 :0 : Acide palmitique	LTP: Lipid transfert particle
C18:0 : Acide stéarique	MBs: Mushroom bodies (Corps pédonculés)
C18:1 : Acide oléique	ORs: Odorant receptors
C18:3 : Acide alpha-linolénique	ORNs: Olfactory receptor neurons
C18:2 : Acide linoléique	PNs: Projection neurons
C20:4: Acide arachidonique	PUFAs: Polyunsaturated fatty acids
DAG: DiAcylGlycérols	SCDs: Steaoryl-coA desaturase
DO: Dorsal organ	SOG: Suboesophagial ganglio
DRKs: Delayed response potassium receptor	SREBP: Sterol response element binding protein
FA: Fatty acid	TAGs: TriAcylGlycérols
FABP: Fatty acid binding protein	TAARs: Trace amine associated receptor
FADs: Fatty acid desaturase	TRCs: Taste receptor cells
FATP: Fatty acid transport protein	TRs: Taste receptors (Mammifères)
Grs: Gustatory receptors (Insectes)	TO: Terminal organ
GRNs: Gustatory receptor neurons	
GPCRs: G protein coupled receptors	
HDLp: High density lipoprotein	
HFDs: High fat diets	
IRs: Ionotropic receptors	

INTRODUCTION

La perception des acides gras et sa plasticité : quels enjeux ?

Pouvoir distinguer les composés bénéfiques et nocifs dans l'environnement est essentiel pour les animaux. Les systèmes olfactifs et gustatifs, impliqués dans cette fonction, ont été largement étudiés chez différents modèles animaux, que ce soit au niveau de la perception de saveurs (sucres, sel et substances amères ; gustation), d'odeur alimentaire (olfaction) ou de la détection des phéromones (olfaction et gustation).

Considérée comme un mal des sociétés développées "*bien nourries*", l'obésité a pris des proportions mondiales, l'OMS estimant que 300 millions d'adultes sont "*cliniquement*" obèses. L'obésité, et les pathologies qui lui sont associées (diabète, maladies cardiovasculaires, cancers), ont un tel impact sur la santé humaine, que les recherches concernant les mécanismes de contrôle du métabolisme des graisses se sont multipliées. Les mécanismes sous-jacents à la perception des acides gras (AGs) font également le sujet de nombreuses recherches depuis une dizaine d'années, afin de répondre à deux principales questions en terme de santé humaine, à savoir, si la susceptibilité génétique à l'obésité peut être liée à la régulation de la perception des AGs et si une surexposition aux AGs peut avoir une influence intra- et intergénérationnelle sur l'appétence pour ces substances.

Ces travaux ont été la plupart du temps effectués sur le modèle souris, alors que très peu ont utilisé des modèles plus simples, comme la Drosophile. Pourtant, cet insecte a les mêmes fonctions métaboliques que les vertébrés : maintenir un niveau adéquat de sucres circulant, permettant de faire face aux variations environnementales, et stocker le surplus d'énergie sous forme de glycogène et de graisse. Ces réserves énergétiques sont mobilisées en cas de besoin (efforts physiques, privation de nourriture) (Wigglesworth 1949, Rusten et al. 2004, Scott et al. 2004).

Les principales voies métaboliques et de régulation de l'homéostasie décrites chez les mammifères sont présentes chez les insectes, et démontrent que la plupart des fonctions métaboliques ont été conservées durant l'évolution. Cette constatation, associée aux avantages indéniables de la Drosophile (durée du cycle, coût et facilité d'élevage, outils génétiques), font que

ce modèle est de plus en plus utilisé pour étudier les mécanismes de régulation du métabolisme et

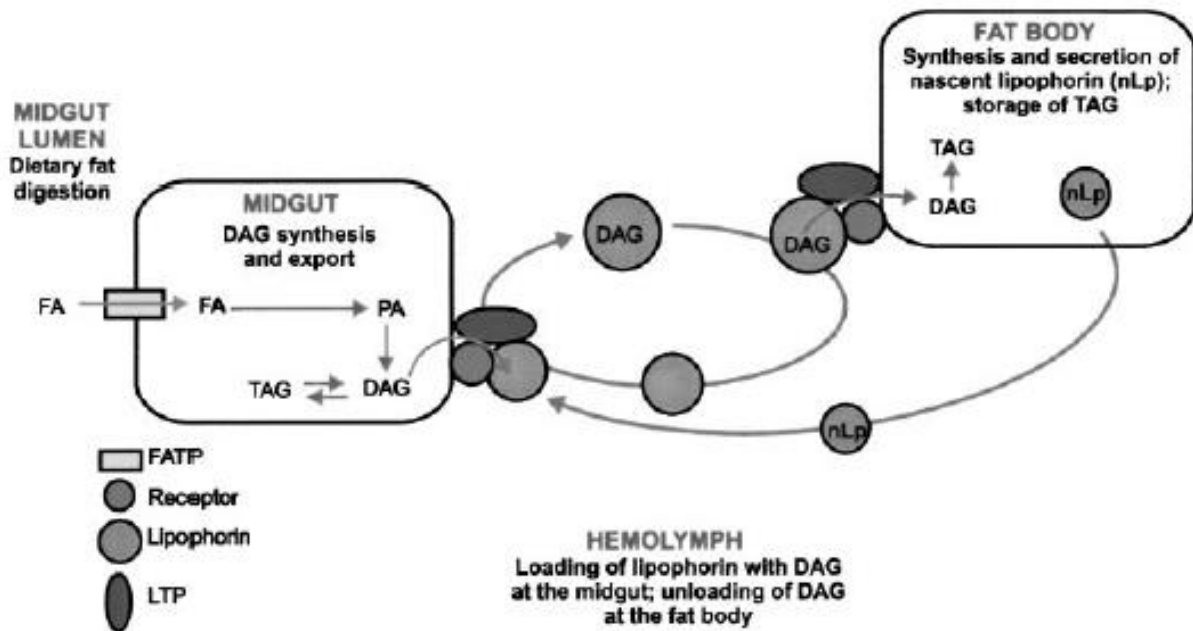


Figure 1 Absorption et transport des AGs chez les insectes.

Les AGs sont absorbés au niveau des entérocytes vraisemblablement grâce à des FATP (Fatty acid transport protein) et transportés dans les entérocytes via les FABP (Fatty acid binding protein) (Majerowicz et al.) (2013). Les AGs sont ensuite exportés sous forme de DAG (Diacylgcérols, synthétisés par la voie de l'acide phosphatidique PA) via les LTP (Lipid transfert particle) sur les lipophorines. Les lipophorines délivrent leur contenu aux différentes cellules de leur organisme grâce à leur récepteur (Lipophorin Receptor) et font la « navette » entre les différentes cellules. D'après Canavoso et al. (2001).

de la physiologie. Cependant, chez les invertébrés, et plus particulièrement chez *Drosophila melanogaster*, les réponses aux AGs ont été peu étudiées alors que nos résultats précédents (Fougeron et al. 2011) et l'apparition de lignées de drosophiles "obèses" (Grönke et al. 2005) ouvrent les possibilités d'une approche comparative passionnante entre les métabolismes des mammifères et des insectes. En outre, vu la durée de son cycle de vie, la drosophile est un des rares modèles permettant d'observer, dans des délais raisonnables, les conséquences d'une surexposition aux AGs pendant de nombreuses générations.

Le métabolisme lipidique des drosophiles

Chez de nombreux êtres vivants, les AGs sont impliqués dans de nombreuses fonctions biologiques, allant du stockage de l'énergie à la biosynthèse d'hormones en passant par la signalisation cellulaire ou la composition des membranes cellulaires. La comparaison du métabolisme des AGs entre insectes et mammifères montre que les acteurs du métabolisme lipidique sont très conservés au cours de l'évolution et se retrouve chez la drosophile.

Les besoins en acides gras et en stérols

Les besoins lipidiques des animaux sont très variables. La différence essentielle entre les métabolismes des mammifères et des insectes est l'incapacité de ces derniers (hormis les aphides, (Douglas 1998) à pouvoir synthétiser du cholestérol, qu'ils sont donc obligés de trouver dans leur alimentation (Canavoso et al. 2001). Le cholestérol, stérol majeur des insectes, joue un rôle important dans de nombreuses fonctions biologiques, de la perméabilité membranaire à la biosynthèse des hormones (Clayton 1964), et les insectes se sont adaptés pour transformer les stérols présents dans leur alimentation (phytostérols, ergostérols) en cholestérol (Svoboda 1997).

Les AGs libres essentiels (indispensables à la survie, mais que l'organisme ne peut pas synthétiser) varient d'une espèce à l'autre. Si l'importance des AGs polyinsaturés (PUFAs) dans le développement du rat a été montré dès 1929 (Burr et al. 1929), ce n'est que depuis les années 60s, que les PUFAs tels que les acides α -linoléique (C18:3) ou linoléique (C18:2) sont considérés comme essentiels chez l'Homme (Holman 1998). Les PUFAs sont également essentiels chez la plupart des insectes (Canavoso et al. 2001). Ainsi, chez les lépidoptères et les hyménoptères, le C18:3 est indispensable pour un développement normal des adultes, alors que le stade larvaire

n'est pas affecté. En revanche, si l'on exclut les moustiques (Merritt et al. 1992), pour qui l'acide arachidonique (C20:4) est indispensable (Dadd et al. 1979), les AGs alimentaires ne sont pas indispensables pour le développement des diptères (Rapport et al. 1983). De plus, les larves et adultes de *D. melanogaster* ne contiennent pas de PUFAs en C20 et C22, même lorsqu'ils sont nourries sur un milieu riche en précurseurs de ces composés (Shen et al. 2010). En outre, cette espèce semble dépourvue des $\Delta 5$ ou $\Delta 6$ -désaturases nécessaires à la synthèse des PUFAs (Vrablik et al. 2013). *D. melanogaster* aurait donc un métabolisme des AGs plus simple que celui d'autres insectes ou des mammifères.

Digestion et absorption

Les mécanismes de digestion et d'absorption des lipides sont relativement bien connus chez les mammifères (Iqbal et al. 2009). La digestion des triglycérides (= TriAcylGlycerides = TAG) démarre par leur exposition à des lipases sécrétées par la langue et continue dans l'estomac sous l'action combinée de ces lipases et des sucs gastriques. Les lipides alimentaires sont émulsifiés dans l'estomac et pénètrent dans le duodénum sous forme de petites gouttelettes qui s'y mélangent au suc pancréatique. Sous l'action des enzymes pancréatiques, l'émulsification se continue et les TAGs commencent à être hydrolysés et micellisés afin d'être absorbés par la paroi intestinale. L'hydrolyse complète des TAGs amène la libération d'AGs. Quoique l'absorption des AGs libres puisse se faire par diffusion passive au travers des membranes entérocytaires (Mansbach et al. 2007), une translocase d'AGs, FATP/CD36, joue un rôle essentiel dans l'absorption active des AGs libres par les entérocytes (Iqbal et al. 2009). FAT/CD36 intervient aussi lors de la formation des chylomicrons (particules lipoprotéiques assurant le transport des lipides dans l'organisme, cf. Transport des AGs dans l'organisme) (Drover et al. 2005). L'expression de FAT/CD36 est stimulée par la présence de lipides alimentaires (Chen et al. 2001) ou lors d'une obésité génétique (Greenwalt et al. 1995). Une fois absorbés, les AGs sont transportés par des protéines FABPs (Fatty Acid-Binding Proteins ; (Hanhoff et al. 2002) jusqu'au réticulum endoplasmique où ils sont utilisés pour synthétiser de nouveaux TAGs. Ceux-ci sont ensuite incorporés dans des lipoprotéines qui seront exportées au pôle basal des cellules (Iqbal et al. 2009).

Chez les insectes, en revanche, les mécanismes permettant l'absorption des lipides sont encore peu connus. En l'absence de bile pancréatique, les insectes ont développé pour solubiliser les lipides d'autres stratégies impliquant notamment des lysophospholipides et la formation de complexes AGs/Acides Aminés (Collatz et al. 1974, Turunen 1988). Après ingestion, les TAGs sont

hydrolysés dans l'intestin moyen (équivalent de l'estomac et de l'intestin chez les mammifères) sous l'action de TAG-lipases sécrétées par les entérocytes (Arrese et al. 2001). Les produits de cette digestion sont absorbés par l'épithélium de l'intestin moyen où ils servent à la synthèse de nouveaux TAGs et de diglycérides (DiAcylGlycerols = DAGs) (Turunen et al. 1996, Canavoso et al. 2001, Canavoso et al. 2004).

Les mécanismes du transit des AGs issus de l'hydrolyse intestinale des TAGs alimentaires dans les entérocytes sont encore peu connus chez les insectes. Il semblerait qu'un transporteur d'AGs (FAT) permettrait aux AGs de pénétrer dans les entérocytes où les DAGs seraient synthétisés avant d'être exportés par des lipophorines à haute (HDLp) ou basse densité (LDLp) associée à une protéine de transport de lipides (LTP) (Ryan et al. 2000, Arrese et al. 2001)(Ryan et al. 2000, Arrese et al. 2001) (*Figure 1*).

Transport des AGs dans l'organisme

Le transport des AGs dans l'organisme permet d'assurer le stockage et la mobilisation des réserves lipidiques. Malgré quelques différences d'organisation, il repose sur les mêmes principes chez les mammifères et les insectes. Cependant, contrairement à ce qui se passe chez les mammifères, chez les insectes, les AGs sont stockés sous forme de TAGs et véhiculés dans l'hémolymphe sous forme de DAGs et (Arrese et al. 2010).

Chez les mammifères, le transport des AGs est assuré par un système complexe de lipoprotéines. L'un de ces systèmes, les chylomicrons, synthétisés et sécrétés par les entérocytes, reçoivent lors de leur trajet sanguin des apolipoprotéines (APOE et APOC2) de la part de protéines HDL (Kindel et al. 2010). APOC2 est le co-facteur nécessaire à l'activité d'une lipase lipoprotéique (LPL) qui assure la dégradation des chylomicrons, et donc la libération des AGs, dans les tissus adipeux et musculaires, les résidus des chylomicrons étant ensuite éliminés par le foie.

Chez les insectes, un seul type de lipoprotéine, les lipophorines, assure le transport des AGs dans l'hémolymphe (Majerowicz et al. 2013). Synthétisées dans le corps gras, les lipophorines distribuent les lipides à tous les organes sous forme de DAGs (Canavoso et al. 2001). Contrairement aux chylomicrons, les lipophorines ne seraient pas détruites durant le transport des graisses et seraient directement réutilisées (Soulages et al. 1994, Rodenburg et al. 2005). Les mécanismes du transfert de ces lipides à l'intérieur des cellules restent peu connus mais ils semblent aussi impliquer les LTPs (Canavoso et al. 2004).

Stockage des AGs et mobilisation

Chez les mammifères, les graisses sont stockées dans le tissu adipeux sous forme de gouttelettes lipidiques cytoplasmiques (lipid droplets, LDs), constituées de lipides neutres en leur centre et d'une couche périphérique de phospholipides (Walther et al. 2012). Le corps gras des insectes a une double fonction similaire à celle du foie et du tissu adipeux : il participe au métabolisme des nutriments et stocke de grandes réserves de glycogène et de lipides. Dans les adipocytes, des LDs stockent 90 % du contenu lipidique (sous forme de TAGs, (Canavoso et al. 2001). Des LDs ont été décrits également dans d'autres tissus comme les tubes de Malpighi (équivalent des reins chez l'insecte) ou dans les oocytes chez les femelles adultes (Buszczak et al. 2002). L'organisation des LDs chez les insectes est similaire à celle chez les mammifères, même si les proportions de phospholipides sont différentes (Walther et al. 2012). Outre les adipocytes, le corps gras des insectes peut contenir des urocytes (stockage de l'urée), des mycétocytes (abritant des symbiontes) et des oenocytes (Arrese et al. 2010). Les oenocytes sont connus pour être impliqués, entre autre, dans la biosynthèse des hydrocarbures cuticulaires (Diehl 1975, Romer 1980), mais ils auraient également un rôle dans la mobilisation lipidique analogue à celui du foie des mammifères (Gutierrez et al. 2006).

Chez les mammifères, la lipolyse a lieu principalement dans le tissu adipeux grâce à l'action de protéines associées aux LDs parmi lesquelles les périlipines (Walther et al. 2012) qui permettent à des lipases (ATGLs, lipases adipocytaires spécifiques de TAGs) de transformer les TAGs en AGs. Ces mécanismes ont été fortement conservés au cours de l'évolution et la plupart des protéines impliquées dans la mobilisation des lipides chez les mammifères possèdent un homologue chez les insectes. Par exemple la lipase de Brummer est l'homologue des ATGLs et les mutants dépourvus de cette enzyme chez *D. melanogaster* montrent un phénotype obèse associé à des perturbations circulatoires (Grönke et al. 2005). De la même façon, l'invalidation des périlipines 1 (Lsd1) entraîne l'obésité chez les Drosophiles adultes alors que celle des périlipines 2 (Lsd2) a l'effet inverse (Kühnlein 2010).

Le contrôle hormonal du métabolisme des AGs dans le tissu adipeux / corps gras

La mobilisation des réserves lipidiques est sous contrôle hormonal. Chez les mammifères, outre leur rôle dans le métabolisme des glucides, l'insuline et le glucagon possède des rôles opposés dans le métabolisme lipidique : l'insuline favorise la lipogénèse et inhibe la lipolyse, probablement

via l'action du facteur de transcription SREBP (Sterol Response Element Binding Protein) (Saltiel et al. 2001), alors que le glucagon favorise la lipolyse, notamment au niveau hépatique (Habegger et al. 2010).

Chez les insectes, la lipolyse est induite par au moins deux types d'hormones : les hormones adipokinétiques (AKH) et l'octopamine. Les AKHs sont des oligopeptides de 8 à 10 acides aminés analogues du glucagon, sécrétées par les cellules neuroendocrines du *corpora cardiaca* et qui régulent le taux de sucres circulant ainsi que le stockage et la mobilisation des graisses (Van der Horst 2003). Chez le papillon *Manduca sexta*, l'injection d'AKH stimule la synthèse d'ATGLs et de lipophorines associés aux LDs (Arrese et al. 1994). Chez *D. melanogaster*, la lipolyse induite par l'AKH est relativement faible mais la présence d'un homologue des CG1-58 des mammifères suggère un système similaire à celui de ces derniers (Arrese et al. 2006). Par ailleurs, l'octopamine (neurotransmetteur homologue de la noradrénaline des vertébrés), module la sécrétion d'AKH chez les criquets (Van der Horst 2003). Il existe également chez les insectes des peptides (ILPs) dont les fonctions sont analogues à celle de l'insuline et qui inhibent la lipase de Brummer (Vihervaara et al. 2008), favorisant ainsi le stockage des graisses (Géminard et al. 2009).

Biosynthèse des acides gras

Quel que soit le modèle biologique, la synthèse des AGs nécessite l'intervention de plusieurs enzymes clés. En premier lieu, un complexe multi-enzymatique, très conservé au cours de l'évolution, la FA-synthétase, permet de synthétiser l'acide palmitique (C16:0) à partir d'acyl-CoA (Smith 1994). L'obtention d'AGs à chaîne carbonée plus longue et insaturée repose sur deux types d'enzymes supplémentaires, respectivement les élongases (ELOVLs) et les désaturases, qui varient d'un taxon à l'autre. Chez les mammifères, 7 ELOVLs ont été isolées à ce jour et se différencient par leur affinité vis-à-vis de leur substrat (longueur, degré d'insaturation) et par leur profil d'expression (Guillou et al. 2010). Chez les insectes, si elle a été démontrée dans la biosynthèse des hydrocarbures cuticulaires chez *D. melanogaster*, l'implication des élongases dans la biosynthèse des AGs est peu connue (Chertemps et al. 2007, Wicker-Thomas 2011). Les désaturases, introduisent une double liaison (insaturation) à une position spécifique de la chaîne carbonée. Deux grandes familles de désaturases existent chez les mammifères : les désaturases spécifiques des stéaroyle-coA (SCDs) et celles spécifiques des acides gras insaturés (FADs). Les SCDs sont des $\Delta 9$ désaturases, dont le substrat peut être du C16:0 ou du C18:0 (Guillou et al. 2010). Les FADs sont des $\Delta 6$ - et $\Delta 5$ -désaturases qui peuvent introduire respectivement une double liaison soit sur le

C18:2 (ω 6) ou le C18:3 (ω 3), soit sur le C20:3 (ω 6) ou le C20:4 (ω 3) (Nakamura et al. 2004). Les Δ 12-désaturases, permettant l'obtention des C18:2 et des C18:3, ne sont pas présentes chez les mammifères, ce qui explique qu'un apport en ces deux acides gras leur soit indispensable (Nakamura et al. 2004). Chez les insectes, les désaturases ont été principalement étudiées pour leur rôle dans la synthèse des hydrocarbures cuticulaires (Howard et al. 2005). La plupart des insectes possèdent des Δ 9-désaturases homologues de celles des mammifères (Howard et al. 2005), mais certaines espèces, comme la blatte, *Blattella germanica*, et le papillon, *Spodoptera littoralis*, possèdent également des Δ 12-désaturases dont sont dépourvus les mammifères, et peuvent donc synthétiser du C18:2 et C18:3 (Blomquist et al. 1991, Rooney 2009). Chez *D. melanogaster*, 8 gènes codant des désaturases ont été identifiées dont 7 d'entre eux codent pour des Δ 9-désaturases (Fang et al. 2009). En revanche, aucune Δ 12-, Δ 6- ou Δ 5-désaturases n'a encore été isolé chez cette espèce, et ce malgré que les PUFAs ne leur soient pas indispensables (Vrablik et al. 2013).

En conclusion, malgré quelques différences fonctionnelles, l'étude du métabolisme lipidique des mammifères et des drosophiles démontre une bonne conservation des différents acteurs protéiques impliqués. Une meilleure compréhension de la régulation du métabolisme lipidique des mammifères et des insectes pourrait permettre de lutter plus efficacement contre les pathologies liées au surpoids. Cependant, si l'obésité peut être due à une dérégulation du métabolisme lipidique, elle est avant tout influencée par le comportement alimentaire : une alimentation riche en lipides provoque l'obésité, aussi bien chez la drosophile que chez les mammifères (Skorupa et al. 2008). Si la perception des AGs et les préférences pour ces composés sont peu documentées chez la Drosophile, la plupart des espèces de mammifères ont une préférence innée pour les nourritures riches en AGs (Montmayeur et al. 2010). Il est donc essentiel de comprendre comment les AGs sont perçus dans l'environnement et en quoi cette perception peut influencer le comportement alimentaire vis-à-vis de ces mêmes AGs.

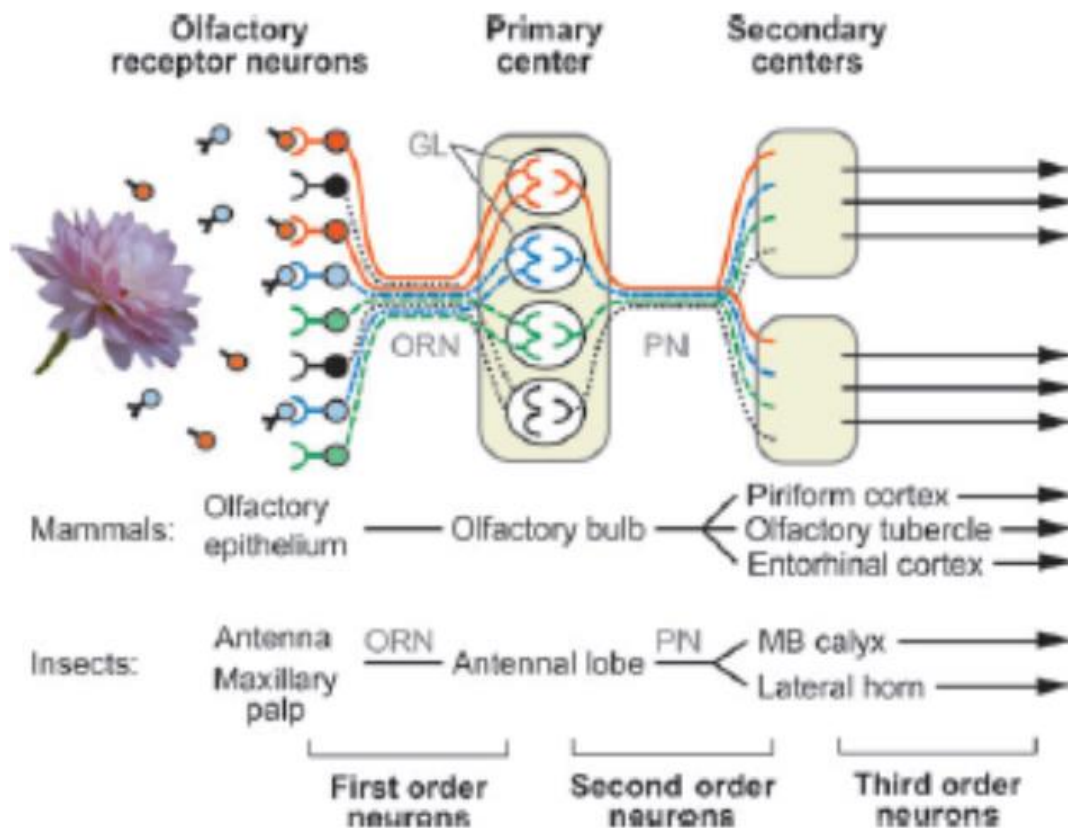


Figure 2 Organisation du système olfactif entre mammifères et insectes.

Les ORNs projettent leur axone au niveau d'un centre d'intégration primaire. Les neurones de projections projettent leur axone au niveau des centres secondaires supérieurs. Un neurone exprime un type de récepteur olfactif. Les structures glomérulaires reçoivent des afférences venant d'ORNs exprimant le même type de récepteur. D'après (Vosshall and Stocker 2007).

Percevoir le gras : pourquoi pas ?

Perception chimio-sensorielle : Mammifères versus Insectes

De nombreuses molécules présentes dans l'environnement informent les animaux sur ses qualités et influencent leur comportement dans différents contextes (recherche alimentaire, recherche d'un site de reproduction, relations avec des individus conspécifiques ou non). L'étude comparée des mécanismes sous-jacents aux systèmes chimio-sensoriels présents dans différents taxa, est donc importante pour comprendre leur ontogenèse et la plasticité des comportements animaux.

Un système très conservé au cours de l'évolution : l'olfaction

Les informations olfactives sont déterminantes pour de nombreuses espèces, y compris l'Homme chez qui l'anosmie provoque une vulnérabilité psychologique importante (Van Toller 1999). L'olfaction permet aux animaux terrestres de détecter des molécules véhiculées par l'air, et aux animaux aquatiques des composés solubles dans l'eau (Gaillard et al. 2004). Les structures olfactives décrites chez les poissons sont similaires à celles des animaux terrestres (Laberge et al. 2001), ce qui suggère, sinon une origine évolutive commune des systèmes olfactifs, au moins des analogies fonctionnelles entre ceux-ci (Strausfeld et al. 1999). Les animaux dont les systèmes olfactifs ont été les plus étudiés restent les rongeurs et la drosophile (Ache et al. 2005).

La morphologie des neurones récepteurs olfactifs (ORNs) est très conservée. Ce sont des neurones bipolaires dont les dendrites ne sont pas en contact direct avec l'environnement mais protégés par un fluide complexe (mucus, lymphe). Leur axone se projette directement vers des centres olfactifs primaires (*Figure 2 Primary center*) dont l'organisation est similaire chez les mammifères (bulbe olfactif) et chez les insectes (lobes antennaires) (Vosshall et al. 2007). Les synapses des axones des ORNs sont en contact avec les dendrites de neurones de projection (PNs chez les insectes ou cellules mitrales chez les mammifères) au sein de structures appelées glomérules. Les PNs et les cellules mitrales projettent ensuite leur axone vers les centres secondaires du traitement de l'information olfactive (*Figure 2 Secondary center*).

Même si ce principe a été mis en doute, il est communément admis que chaque ORNs n'exprime qu'un type de récepteur olfactif (Mombaerts 2004). Tous les ORNs exprimant un même type de récepteur projettent leur axone vers le même glomérule, ce qui serait la base d'une

véritable chimiotopie. Cette convergence fonctionnelle, que l'on retrouve chez divers modèles animaux, souligne l'importance des centres primaires de traitement de l'information olfactive et suggère que cette stratégie est la plus efficace pour répondre aux contraintes de l'olfaction (Ache et al. 2005). Par ailleurs, les projections des PN ou des cellules mitrales vers les centres secondaires ne montrent pas une organisation aussi convergente que dans les centres primaires et présentent, en outre, des différences importantes entre espèces (Farris 2008, Nagayama et al. 2010). Ainsi, chez *D. melanogaster*, les PN de glomérules proches projettent différemment leur axone au niveau des cellules de Kenyon des corps pédonculés (MBs) (Lin et al. 2007). Au-delà de ces similarités anatomo-fonctionnelles, les ORNs peuvent exprimer une diversité de récepteurs olfactifs qui varient fortement entre les espèces.

Les récepteurs olfactifs

Depuis la découverte en 1991 de la grande famille des récepteurs olfactifs (ORs) chez le rat (Buck et al. 1991), de nombreuses études ont permis de détecter, chez d'autres espèces, la présence de cette famille de récepteurs couplés aux protéines G (GPCR). De nombreux gènes et pseudogènes d'ORs ont été identifiés mais leur nombre varie fortement selon les espèces. Ainsi, les rats possèdent 1430 gènes d'ORs (Gibbs et al. 2004) contre 62 chez la drosophile (Robertson et al. 2003). La proportion d'ORs fonctionnels reflèterait l'importance évolutive de l'olfaction pour chaque espèce (Kaupp 2010). Chez la Drosophile, des ORs ont également été décrits et ils possèderaient une topologie particulière dont les particularités fonctionnelles sont encore inconnues (Vosshall et al. 1999, Benton et al. 2006).

Les ORs ne sont pas les seuls récepteurs présents au niveau des structures olfactives : les mammifères sont dotés de récepteurs aux acides aminés volatiles, les TAARs (Trace amine-associated receptors), localisés au niveau de l'épithélium olfactif (Liberles et al. 2006), et un nouveau type de récepteur olfactif (les IRs) a été récemment découvert chez la Drosophile (Benton et al. 2009). La découverte de ces récepteurs est susceptible d'apporter un changement profond dans la compréhension de la perception olfactive (Su et al. 2009).

Si la drosophile adulte est considérée depuis une vingtaine d'années comme un modèle d'étude de la chimiosensorialité, les larves sont également étudiées. Leur organisation neuronale obéit rigoureusement aux mêmes principes d'organisation que celle de l'adulte (Stocker 1994, Vosshall et al. 2007) mais implique beaucoup moins de neurones. Malgré cela, les larves montrent des comportements robustes et des réponses variées et plastiques envers les composés présents dans

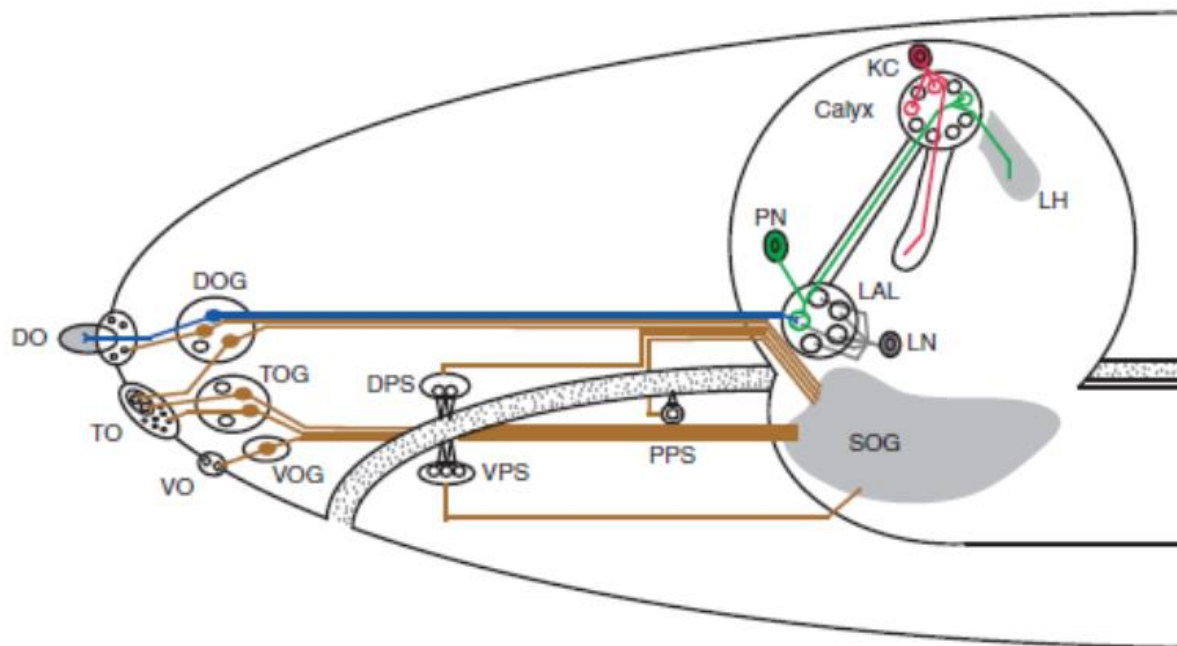


Figure 3 Système chimiosensorielle chez les larves de drosophiles.

Afférences olfactives (bleu) et gustatives (marron). DO organe dorsale ; VO organe ventral ; TO organe terminal ; DOG TOG VOG ganglions respectifs ; SOG ganglion suboesophagien ; DPS VPS PPS organes sensoriels pharyngaux ; LAL lobe antennaire ; KC cellule de Kenyon ; LH corne latérale. D'après Vosshal et Stocker 2007

leur environnement (Gerber et al. 2007). Les larves possèdent 21 ORNs projetant leur axone dans 21 glomérules dont partent 21 PNs (*Figure 3*), eux-mêmes projetant leur axone en direction d'une population de 600 neurones au niveau des corps pédonculés (MB) (Ramaekers et al. 2005). Chez l'adulte, on dénombre 1300 ORNs, 43 glomérules, 150 PNs et 2500 neurones au niveau des corps pédonculés. Si les mêmes principes de connexion se retrouvent chez les larves et les adultes, le nombre de neurones olfactifs larvaires ne permet pas de système convergent et redondant, ce qui suggère que la suppression d'un ORN donné chez la larve aurait plus de conséquence que chez l'adulte. Cependant, compte-tenu de l'environnement limité dans lequel elles évoluent, chez les larves, l'olfaction semble moins importante que la gustation.

Modalité gustative entre mammifères et insectes : des bases communes, des goûts différents

Détecter les composés nocifs dans l'alimentation est essentiel aux animaux, et la modalité gustative est la plus soumise aux pressions de sélection et par conséquent la plus adaptative (Yarmolinsky et al. 2009).

Les organes gustatifs, où sont situées les cellules réceptrices gustatives, diffèrent entre mammifères et insectes (Yarmolinsky et al. 2009). Chez les mammifères, les récepteurs gustatifs (TRCs) sont localisés sur la langue ou sur le palais, alors que chez les insectes, les récepteurs gustatifs (GRs) se retrouvent sur de nombreuses structures comme le proboscis, les pattes, l'organe ovipositeur, la marge antérieure de l'aile ou encore dans des organes pharyngaux. L'arrangement des cellules réceptrices est également différent. Chez les mammifères, elles sont organisées en bourgeons d'une vingtaine de cellules, qui contiennent les TRCs et 2 cellules de soutien, ainsi que les projections axonales des neurones gustatifs. Ces bourgeons sont localisés au niveau de papilles gustatives. Chez les insectes, les sensilles gustatives, équivalentes des bourgeons, ne regroupent que 4 ou 2 GRNs, une cellule mécano-sensorielle et des cellules de soutien (Stocker 1994). Trois types de sensilles gustatives, présentes sur le proboscis de la *Drosophile*, ont pu être caractérisées par leur longueur : les longues (L), les intermédiaires (I) et les courtes (S). Les sensilles L et S possèdent 4 GRNs, répondant au sucre (cellule S), à l'eau (cellule W), au sel à faible concentration (L1) et au sel à forte concentration et aux substances amères (L2) (Montell 2009).

Chez les mammifères, les informations gustatives en provenance des bourgeons, sont relayées vers les noyaux du tractus solitaire avant d'être transmise aux noyaux parabrachiaux de l'hypothalamus pour enfin atteindre le cortex gustatif de l'insula (Small 2010). Chez les insectes, les

GRNs projettent leur axone en direction du ganglion suboesophagien (SOG) et ce, de façon différente, selon leur origine topographique et les GRs qu'ils expriment (Thorne et al. 2004). Malgré ces différences anatomiques, le codage gustatif chez les mammifères et les insectes repose sur des principes communs. Globalement, chaque cellule réceptrice gustative n'exprime qu'un type de récepteur gustatif et ne peut donc répondre qu'à une catégorie de stimuli (Chandrashekar et al. 2006, Yarmolinsky et al. 2009). Cependant, les GRNs exprimant les récepteurs à l'amer chez la drosophile expriment plusieurs récepteurs mais ceux-ci sont toujours associés à la détection de l'amertume (Weiss et al. 2011). Chez le rat et chez la drosophile, les neurones sont regroupés dans les centres gustatifs centraux, en fonction du goût auquel ils répondent (Wang et al. 2004, Chen et al. 2011).

Les récepteurs gustatifs

Chez les mammifères, les récepteurs gustatifs au sucre (T1Rs) (Nelson et al. 2001), sont une petite famille de GPCRs hétéromériques assemblés à partir de 3 sous-unités (T1R1, T1R2, T1R3) dont les différentes combinaisons permettent de détecter une large gamme de saveurs (sucre, édulcorant, umami, L-glutamate et acides aminés). La détection des substances amères repose sur les T2Rs, une famille de GPCRs plus diversifiée (entre 10 et 40 selon les espèces ; (Chandrashekar et al. 2000). Chez les mammifères, les mécanismes de perception du sel restent encore peu connus mais celui-ci provoque une réponse attractive à faible concentration et aversive à forte concentration, situation que l'on retrouve chez la drosophile. Chez cette dernière, 68 récepteurs gustatifs (Grs), qui présentent peu d'homologies entre eux ou avec les récepteurs des mammifères, ont été identifiés (Montell 2009). Cependant, la gamme de molécules perçues est similaire entre les deux taxa. Ainsi les GRNs exprimant le GR5a, un récepteur au tréhalose (Dahanukar et al. 2001), répondent à une large variété de sucres (Wang et al. 2004) et sept autres récepteurs aux sucres ont pu être mis en évidence (Montell 2009). Les GRNs exprimant le GR66a, et qui n'expriment pas le GR5a, répondent aux substances amères. Comme chez les mammifères, les GRs répondant aux substances amères chez la drosophile sont beaucoup plus nombreux que ceux répondant aux sucres ce qui permet de détecter une plus large gamme de substances potentiellement toxiques (Weiss et al. 2011). Par ailleurs, Les mécanismes de la détection du sel sont encore méconnus mais une étude a pu démontrer l'implication d'une dégénérine couplée un canal sodique (ppk13 ; (Liu et al. 2003).

Comme le système olfactif, le système gustatif est plus simple chez la larve de drosophile que

chez l'adulte, tout en reposant sur les mêmes principes. Ainsi, 39 des 68 GRs adultes s'expriment dans les organes sensoriels de la tête de la larve (Organe dorsal, DO ; organe terminal, TO) (Gerber et al. 2007) et/ou dans les organes pharyngaux (Kwon et al. 2011) (*Figure 3*). Les GRNs expriment pour la plupart au moins deux GRs mais, là encore, les GRNs montrent peu de redondance (Kwon et al. 2011). Curieusement, les 8 principaux récepteurs aux sucres décrits chez l'adulte ne sont pas exprimés chez la larve, mais il a été montré qu'un récepteur (GR43a), situé dans les organes pharyngaux de la larve est impliqué dans la détection des sucres (Mishra et al. 2013). Comme chez l'adulte, les GRNs se projettent différemment dans le SOG en fonction de leur origine et de la réponse qu'ils induisent (Colomb et al. 2007).

La Perception des acides gras est multi-sensorielle chez les mammifères

Chez l'Homme, la présence d'AGs dans la nourriture est perçue via différentes modalités sensorielles : vision, contact, olfaction et gustation (Mattes 2009). Des indices visuels comme la brillance d'une surface peuvent trahir la présence d'AGs sans pour autant renseigner sur la qualité de ces derniers. La perception de la texture "huileuse" des acides gras a longtemps été considérée comme la principale modalité orosensorielle utilisée chez les mammifères pour détecter leur présence mais ces résultats sont remis en cause depuis deux décennies (Mela et al. 1994, Kadohisa et al. 2005). Les rats seraient capables de détecter olfactivement des AGs à courte (Bisulco et al. 2003) et longue chaînes (Tsuruta et al. 1999). Cependant, dans ces deux cas, les lésions expérimentales du bulbe olfactif n'abolissent pas complètement la préférence pour les AGs, ce qui suggère l'existence d'une composante non-olfactive de leur perception. Plusieurs récepteurs aux AGs exprimés au niveau des cellules gustatives ont été décrits (Montmayeur et al. 2010). Les canaux potassiques (DRKs) des TRCs sont impliqués dans la perception gustative des PUFAs (Gilbertson et al. 1997) mais d'autres types de molécules sapides, comme les acides ou les substances amères, modulent également les courants potassiques (Kinnamon et al. 1988, Zhao et al. 2002). Ceci suggère que les DRKs participeraient à la modulation de la détection gustative périphérique mais n'expliqueraient pas seuls les capacités de discrimination.

Les récepteurs GPR 120, exprimés au niveau des bourgeons gustatifs des mammifères dans les cellules répondant au sucre, à l'amer ou à l'umami, se lient aux AGs à longue chaîne, saturés et insaturés (Damak et al. 2007) ce qui pourrait révéler des interactions entre les AGs et d'autres

saveurs. D'autres membres de la même famille (GPR 41 et 43) répondent aux AGs à courte chaîne (Hirasawa et al. 2008). Enfin, chez la souris, CD36, un transporteur d'AGs (cf Absorption des AGs), exprimé au pôle apical de certaines cellules gustatives, semble impliqué dans la préférence pour les AGs (Laugerette et al. 2005). Chez l'Homme, le polymorphisme du gène de CD36 influe à la fois sur la perception des AGs et sur la probabilité de développer une obésité (Keller et al. 2012). CD36 jouerait le rôle de corécepteur permettant l'acheminement des AGs à longue chaîne vers leurs récepteurs potentiels (Abdoul-Azize et al. 2013). Si les mammifères sont équipés pour pouvoir détecter les AGs, cette possibilité reste méconnue chez d'autres modèles. Il faut toutefois noter que Snmp¹, un homologue de CD36 qui se retrouve chez différents insectes (Vogt et al. 2009), joue un rôle important dans la détection des phéromones chez la drosophile (Benton et al. 2007). Plus récemment, il a été montré que, chez la drosophile, la phospholipase C, est impliquée dans la transduction du signal de CD36 au niveau des cellules gustatives (Abdoul-Azize et al. 2013) et dans la réponse aux AGs dans des neurones répondant au sucre (Masek et al. 2013).

Réponses envers les acides gras chez les insectes

Chez les insectes, si de nombreux travaux sont consacrés à la réponse aux hydrocarbures cuticulaires, les réponses aux AGs ont été peu étudiées. Les réponses comportementales des insectes, et d'autres arthropodes, ont surtout été étudiées afin d'isoler les molécules impliquées dans l'attraction ou la répulsion d'une espèce vis-à-vis de son hôte. Ainsi, le moustique *Aedes aegypti* est attiré par un mélange d'AGs à courte chaîne et d'acide lactique, présent en forte concentration sur la peau humaine (Bosch et al. 2000). La tique *Boophilus microplus* répond préférentiellement aux AGs à chaîne moyenne (C7, C8) présents sur les bovins (Osterkamp et al. 1999). A l'opposé, la mouche *Musca domestica* est repoussée par les AGs à chaîne moyenne (C8-C10) (Mullens et al. 2009). Les AGs peuvent aussi influencer le comportement d'oviposition chez les insectes : chez *A. aegypti*, si le C18:0 est répulsif à forte concentration, le C18:1 ne provoque pas de réponse (Ganesan et al. 2006), alors que les AGs insaturés sont répulsifs pour les femelles du moustique *Culex quinquefasciatus* (Hwang et al. 1984). Chez les drosophiles, l'acide hexanoïque (C6:0) est attractif pour *Drosophila sechelia* mais répulsifs pour *D. melanogaster* (Higa et al. 1993), et les acides palmitique (C16:0) et oléique (C18:0) influencent les comportements d'émigration chez *D. melanogaster* (Narise et al. 1991). Plus récemment, il a été montré que le C6:0 et le C18:2 (acide linoléique) à faible concentration sont appétitifs chez *D. melanogaster*.

(Masek et al. 2013). D'autre part, les larves et les adultes de *D. melanogaster* ont des préférences différentes envers les AGs saturés ou insaturés (Fougeron et al. 2011) : les larves sont attirées par les AGs insaturés et repoussées par les AGs saturés alors que les adultes ne montrent une aversion claire que pour les AGs insaturés. Chez les larves, l'olfaction et la gustation semblent impliquées dans la détection des AGs insaturés, notamment le C18:3, alors que seule la gustation semble impliquée dans la détection des AGs saturés. Chez les adultes, la gustation est vraisemblablement impliquée dans la perception des AGs, mais l'implication de l'olfaction n'est pas confirmée.

Plasticité phénotypique : quel intérêt pour l'individu ?

Longtemps considéré comme le produit direct de l'expression des gènes, la notion de phénotype englobe actuellement les comportements (Dawkins 1999). Aujourd'hui, un phénotype est considéré comme étant le produit de l'expression d'un génotype, de l'environnement et de l'interaction entre ce génotype et son environnement (Mackay et al. 2009). Les phénotypes sont rarement figés, ce qui pose la question de leur plasticité et de l'intérêt écologique de cette plasticité phénotypique, tant au niveau de l'individu que de l'espèce. La notion de plasticité a connu récemment un regain d'intérêt avec l'observation de la plasticité cérébrale (May 2011), mais celle-ci ne constitue qu'un exemple de plasticité phénotypique. Dans les conditions naturelles, les organismes doivent faire face à une variabilité permanente de l'environnement et s'y adapter au mieux. Si la plasticité phénotypique peut être une réponse de l'espèce ou de l'individu à cette variabilité permanente, tous les phénotypes ne sont pas sujets aux mêmes degrés de plasticité (Auld et al. 2010).

Plasticité intra-individuelle

L'apprentissage désigne l'ensemble des phénomènes permettant à un individu d'adapter, de façon durable, son comportement suite à l'exposition à des stimuli environnementaux. Différentes formes d'apprentissage existent dans la nature, allant des apprentissages associatifs, qui permettent d'associer deux stimuli, à l'habituation, qui permet de diminuer la réponse à un stimulus après une surexposition à celui-ci (Lau et al. 2012).

Chez les insectes, l'apprentissage associatif a été d'abord étudié chez les adultes mais des études récentes montrent des mécanismes d'apprentissage communs entre larve et adulte (Gerber et al. 2007). Chez les insectes holométaboles, l'apprentissage larvaire peut persister chez l'adulte,

malgré un réarrangement drastique du système nerveux central lors de la métamorphose (Armstrong et al. 1998). Ainsi, chez *Manduca sexta*, la mémoire aversive d'une odeur couplée à des chocs électriques établie chez la chenille persiste jusqu'à l'âge adulte (Blackiston et al. 2008). Chez *D. melanogaster*, un conditionnement associatif pré-imaginal peut également influencer le comportement adulte (Tully et al. 1994) mais des résidus de l'environnement chimique larvaire, présent sur le jeune adulte, pourraient influencer ce dernier sans qu'il n'y ait de persistance mnésique lors de la métamorphose (Barron et al. 1999).

L'habituation existe aussi chez les insectes. Ainsi la réponse aversive des chenilles d'*Helicoverpa armigera* ou des larves de la punaise *Rhodnius prolixus* face des substances répulsives diminue lorsqu'elles sont pré-exposées à ces substances (Zhou et al. 2010, Sfara et al. 2011, Vinauger et al. 2013). Les mécanismes permettant d'expliquer cette forme d'apprentissage seraient périphériques, la sensibilité des cellules répondant à ces substances diminuant après une surexposition (Glendinning et al. 2001) mais, comme cela a été montré chez les larves de *D. melanogaster* (Larkin et al. 2010), une influence du système nerveux central n'est pas à exclure.

Evolution de la plasticité et sélection

D'après Darwin (1859), la sélection naturelle favorise la survie et la reproduction d'organismes possédant le(s) phénotype(s) le(s) plus adapté(s) à un environnement. De nombreuses études ont tenté de reproduire ces processus en laboratoire (Harshman et al. 2000), mais il en existe peu sur l'impact de la sélection en conditions naturelles. Toutefois, l'une d'elle montre que la plasticité phénotypique serait favorisée par un relâchement de la pression de sélection (Hunt et al. 2011).

Maintenir une plasticité phénotypique est coûteux pour un organisme et n'est possible que si l'organisme maintient et régule un système sensoriel permettant de détecter l'environnement et de réagir à celui-ci (Auld et al. 2010). D'autre part, une autre limite de la plasticité d'un phénotype serait son possible impact restrictif sur un (ou d'autres) phénotype(s) (Snell-Rood et al. 2010).

Plasticité des préférences envers les acides gras

Chez l'Homme et le rat, une exposition à des milieux riches en AGs (High Fat Diet = HFD) augmentent la préférence envers ces AGs (Imaizumi et al. 2000, Teegarden et al. 2009). Les mécanismes impliquant cette augmentation de l'appétence montrent que les effets post-ingestifs des AGs jouent un rôle dans ce renforcement positif (Yoneda et al. 2007). Chez les mammifères, même l'expérience foétale peut avoir une influence sur les préférences de l'adulte envers les AGs. Ainsi, la préférence des jeunes rats pour les aliments gras est augmentée lorsque leur mère est

soumise, durant la gestation, à un régime alimentaire riche en AGs ou pauvre en protéines (Bellinger et al. 2004, Bayol et al. 2007). Les préférences envers les AGs sont donc susceptibles d'évoluer au cours d'une seule génération et peuvent influencer le comportement alimentaire de la descendance. Ces observations soulèvent la question de l'évolution des préférences envers les AGs sur plusieurs générations et de l'adéquation entre la forte plasticité du comportement alimentaire et la plasticité des capacités métaboliques d'une population. Les habitudes alimentaires et la santé de populations récemment émigrées font l'objet de nombreuses études pour répondre à ces questions. Par exemple, la prévalence de pathologies coronariennes chez des populations d'origine japonaise vivant aux USA ou à Hawaï est supérieure à celle observée au Japon (Tillotson et al. 1973). Cet état de fait s'explique principalement par la modification du régime alimentaire des populations vivant au contact d'une culture occidentale dont l'alimentation est beaucoup plus riche en lipides. Si le comportement alimentaire peut-être rapidement modifié, le métabolisme ne possède pas la même dynamique ; il serait donc intéressant de pouvoir suivre expérimentalement l'évolution, au cours des générations, des préférences envers les AGs et des traits de vie d'une population dont le régime alimentaire serait enrichi en AG ; en d'autres termes, est-il possible de s'adapter à long-terme à des régimes riche en AGs ? Avec leur cycle de reproduction plus court et leur facilité d'élevage, les drosophiles constituent un modèle très avantageux pour essayer de répondre à cette question. En effet, même si la plasticité des réponses aux AGs n'a pas encore fait l'objet d'études chez les insectes, il est possible qu'un tel phénomène existe chez la drosophile. Chez cette espèce, larves et adultes ont des préférences différentes envers les AGs (Fougeron et al. 2011), ce qui pourrait refléter des besoins métaboliques différents et/ou être influencées par l'environnement. L'étude de la plasticité de ces différentes réponses comportementales (cf Réponses envers les AGs chez les insectes) est un des points majeurs de ma thèse.

L'objectif principal de ce travail était d'analyser les effets d'une exposition des larves et des adultes de *D. melanogaster* à un milieu enrichi en AGs saturés ou insaturés sur plusieurs échelles de temps : au cours de la même génération et après plusieurs générations. Dans chaque cas, les préférences des larves et des adultes ont été mesurées ainsi que certains traits de vie (fécondité des femelles, survie). Dans un deuxième temps, des protocoles de sélection basés sur les réponses comportementales des larves et des adultes vis-à-vis des AGs ont été mis en place dans le but d'obtenir des lignées hyper-attirées par les AGs afin d'isoler plus facilement des gènes impliqués dans la préférence aux AGs. Par ailleurs, certains gènes impliqués dans l'olfaction ont également

été étudiés grâce à des lignées de drosophiles mutantes et ce, afin de mieux comprendre les modalités impliquées dans la préférence envers les AGs chez les drosophiles.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

L'objectif de ma thèse était d'étudier les effets, à court ou long terme, de la perception par les larves et les adultes de *D. melanogaster*, de deux AGs (C18 :0 et C18 :1). Les impacts de différentes procédures d'expositions (temporaires ou permanentes) et de deux procédures de sélection (larvaire et adulte) ont été évalués en termes de traits de vie (larvaires et adultes) et de comportement (préférences larvaires, choix de site de pontes).

Les mouches

La majorité des expériences ont été menées sur une lignée sauvage de *D. melanogaster* (Di2) récoltée aux environs de Dijon par Jean-François Ferveur en 2000, et maintenue au laboratoire depuis cette date sur un milieu d'élevage standard.

Les préférences d'oviposition ont été également testées sur plusieurs lignées de mutants nuls pour des protéines impliquées dans l'olfaction (ORCO, IR8a et IR25a ; les plus largement exprimés dans le système olfactif) provenant du laboratoire de Richard Benton (Université de Lausanne, Suisse). ORCO est le corécepteur des OR chez les insectes (Vosshall et al. 2011). IR8a et IR25a sont les corécepteurs de nombreux IRs (Benton et al. 2009). La lignée mutante w118, lignée mutée pour le gène *white*, qui confère la couleur rouge des yeux, a été utilisée comme contrôle pour ces trois lignées (même fond génétique). Le comportement d'oviposition a aussi été testé sur la lignée *Snmp*² (provenant du même laboratoire), mutante pour la protéine membranaire SNMP (Sensory Neuron Membrane Protein) impliquée dans la perception olfactive du *cis*-vaccenyl acetate (cVA) (Benton et al. 2007). Cette lignée a été rétro-croisée avec la lignée Di2 durant 5 générations afin d'homogénéiser son patrimoine génétique avec celui de notre lignée contrôle et retirer le chromosome balancier TM2, porteur de la mutation Ubx (produisant deux paires d'ailes) dans la lignée *Snmp*² que nous avons reçu.

Toutes les lignées sont maintenues sur du milieu standard (cf. ci-dessous) à $25 \pm 1^\circ\text{C}$, à une humidité relative de $65 \pm 5\%$ et sous une photopériode 12 : 12h (allumage à 8h00 AM) dans des tubes en verre de 150 ml contenant 3-4 ml de milieu. Les mouches sont transférées tous les 3-4 jours dans de nouveaux tubes afin d'éviter les problèmes de compétition larvaire et fournir une progéniture suffisante

Les milieux d'élevage

a. Le milieu standard

Le milieu standard est composé de 6,5 L d'eau distillée, 425 g de farine de maïs, 425 g de levure de bière, 60 g d'agar et 200 ml d'antifongique (méthyl-4-hydroxybenzoate à 1% dans de l'éthanol à 95%). En utilisant la chromatographie en phase gazeuse (CPG), nous avons évalué que ce milieu contenait respectivement 0.004 ± 0.002 mg/ml de C18 :0 et 0.016 ± 0.007 mg/ml de C18:1 (AGs libres).

b. Les milieux enrichis

Afin d'éviter tout risque de dégradation, toutes les solutions (Sigma Aldrich) sont conservées à -20°C. Le milieu enrichi est préparé à partir de milieu standard réchauffé à 60°C dans lequel est ajouté le C18:0 ou le C18:1 dilué dans 0.5 ml d'éthanol pure afin d'obtenir une concentration finale de 0.5 ou de 5 mg/ml d'acide gras par millilitres de milieu (cela correspond respectivement à $1,8 \cdot 10^{-3}$ et $1,8 \cdot 10^{-2}$ mol/l). Les milieux sont ensuite homogénéisés vigoureusement à la main à l'aide d'une spatule. Un volume équivalent d'éthanol est ajouté au milieu contrôle. Après évaporation de l'humidité (20h à 25°C), les milieux préparés sont conservés à 4°C et utilisés dans un délai d'une semaine.

Les tests biologiques

Tous les tests ont été réalisés dans des conditions de température, d'humidité et d'éclairage identiques à celles utilisées pour les élevages.

Tests d'oviposition

Des femelles adultes vierges âgées de 4 jours sont mises au contact de mâles du même âge pendant 3 heures (10 femelles pour 20 mâles). Les femelles sont ensuite introduites, par groupe de 5, dans le dispositif de test d'oviposition. Ce dispositif consiste en une boîte de Pétri en verre (DURAN, diamètre = 95 mm, hauteur = 100 mm) contenant deux "*pondoirs*" (boîtes de pétri Greiner Bio-one ; diamètre = 35 mm, hauteur = 10 mm) remplies de milieu standard enrichi en AGs (0.5 ou 5 mg/ml) ou de milieu standard (2 ml de milieu par pondoir). Les femelles sont laissées dans les dispositifs durant 20 heures. Les œufs déposés sur chaque pondoir sont ensuite dénombrés et un Indice de Préférence d'Oviposition est calculé comme suit :

$$IPO = \frac{(\# \text{œufs sur milieu AG}) - (\# \text{œufs sur milieu Standard})}{(\# \text{œufs sur milieu AG}) + (\# \text{œufs sur milieu Standard})}$$

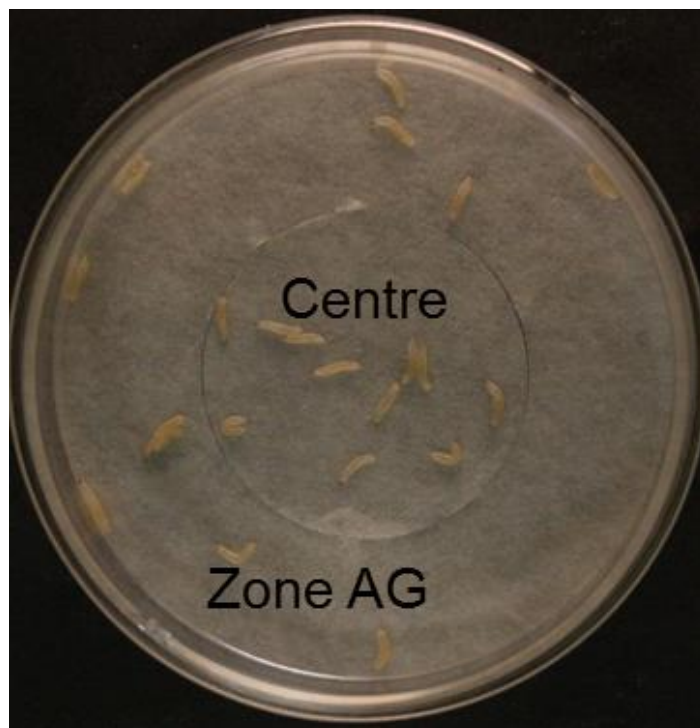


Figure 4 Dispositif de test des préférences larvaires.

Les larves (L3) sont déposées au centre par groupe de 20. Après 5 minutes, les parties centrales ainsi que le couvercle sont enlevés et le nombre de larve sur chaque zone est déterminé pour calculer un index de préférence larvaire.

Tests de préférence larvaire

Des groupes de 20 larves du (stade L3 précoce sélectionnées sur base de leur spiracle, Ashburner et al. 1989) sont introduits dans des boîtes de Pétri (Nunc ; diamètre = 60 mm, hauteur = 15 mm) contenant un papier filtre (Whatmann, Cat 42. , diamètre = 55mm) divisé en deux cercles concentriques (28 mm de diamètre pour celui du centre) à l'aide d'un emporte-pièce. (Figure 4)

L'anneau extérieur est imprégné dans une solution d'AGs (10 mg/ml) dilués dans l'éthanol (100%) de 10 ml pendant 5 secondes alors que la zone centrale est imprégnée dans 10 ml d'éthanol pure pendant la même durée. Les deux parties sont laissées à l'air libre pendant 5 minutes afin que l'éthanol s'évapore. Les quantités d'AGs présentes sur l'anneau extérieur, suite à ce traitement, ont été déterminées par CPG (N=3): 2.62 ± 0.06 mg pour le C18:1 et 2.54 ± 0.09 mg pour le C18:0, soit 0.19 mg/cm^2 pour les deux AGs. Les deux zones sont ensuite réassemblées dans la boîte de Pétri et humidifiées avec 1 ml d'eau distillée afin de faciliter le déplacement des larves. Cinq minutes après le dépôt des larves au centre du dispositif, les larves présentes sur chaque zone et sur le couvercle sont dénombrées et un Indice de Préférence Larvaire est calculé comme suit :

$$\text{IPL} = \frac{(\# \text{Larves sur zone AG}) - (\# \text{Larves sur zone non AG})}{(\# \text{Larves sur zone AG}) + (\# \text{Larves sur zone non AG})}$$

Mesure du taux de mortalité

Contrairement aux résultats précédemment publiés (Fougeron et al. 2011), les mesures de mortalité présentées ici ont été réalisées sur des groupes de mouches de même sexe.

Des groupes de 20 individus, âgés de 24h, sont transférés dans des tubes d'élevage contenant 3 ml de milieu enrichi en AG ou de milieu standard. Les insectes sont transférés dans des tubes frais contenant le même milieu tous les 48 heures pendant 22 jours. Lors des repiquages, les mouches mortes sont dénombrées.

Mesure du développement larvaire

Des groupes de 50 œufs sont déposés dans des tubes en plastique contenant, soit du milieu enrichi soit du milieu standard. Après 24 heures, les œufs éclos sont dénombrés. Par la suite, les jeunes pupes et les adultes émergeant sont dénombrés toutes les 24 heures.

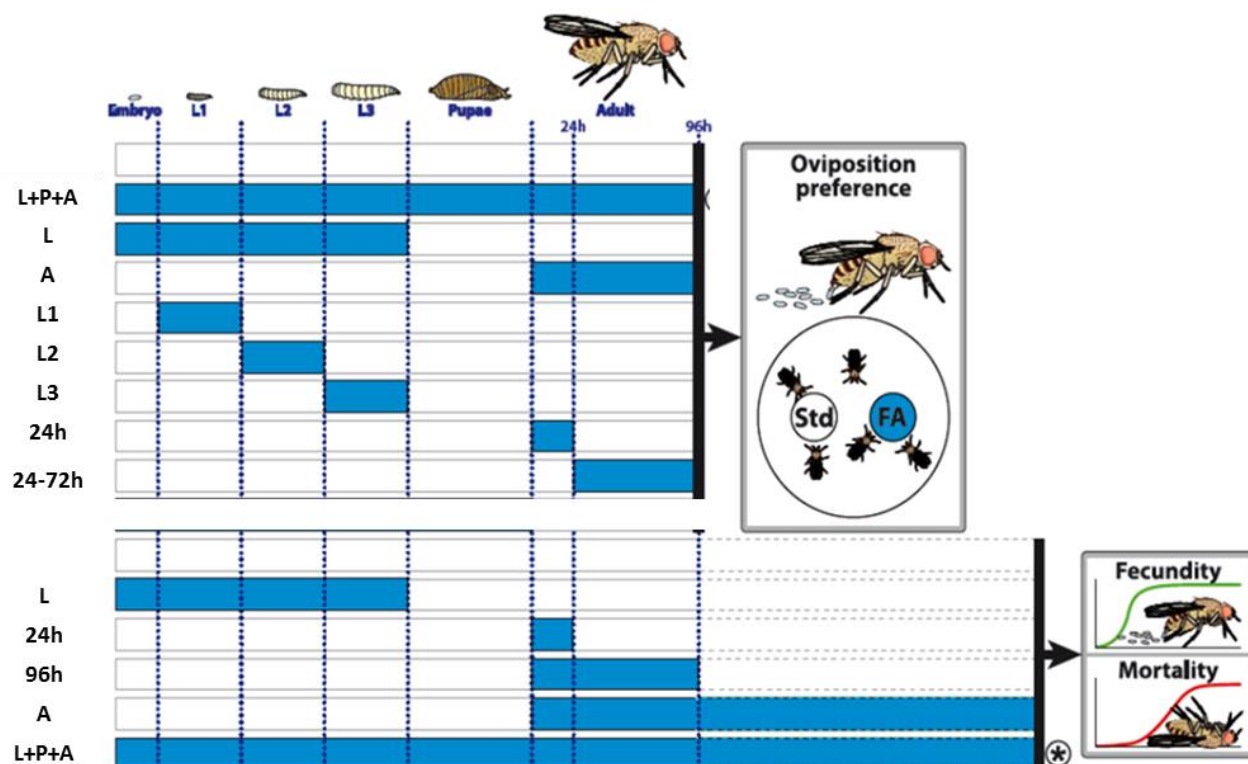


Figure 5 Protocoles d'exposition temporaire.

Les individus sont exposés au milieu enrichi (FA : 5mg/mL) en C18:0 ou C18:1, au cours de leur développement selon 8 périodes différentes larvaire/et ou adulte après lesquelles l'oviposition femelles adultes est testée (en haut). Par ailleurs, la fécondité et la mortalité des individus ont été mesurées après différentes périodes d'exposition transitoire (en bas).

Mesure de la fécondité

A l'éclosion, un mâle et une femelle sont réunis dans un tube d'élevage contenant, soit du milieu enrichi en AG, soit du milieu standard (selon leur exposition préalable). Chaque couple est transféré quotidiennement dans un tube frais contenant le même milieu initial. Les tubes sont gardés à 25°C pendant 48 h et le nombre d'œufs (total, non fertilisé et non viable) est déterminé.

Les procédures d'exposition

a. Exposition intragénérationnelle à un milieu enrichi en AG

Des groupes de 50 mouches (lignée Di2) sont exposées à du milieu enrichi en C18:0 ou en C18:1 à 5 mg/ml au cours de 8 périodes différentes. Les préférences d'oviposition des femelles ont été testées 96 heures après leur éclosion (*Figure 5*).

Les différentes périodes d'exposition sont :

- 1) exposition complète de l'embryon à l'adulte âgé de 96 heures (**L+P+A**) ;
- 2) *exposition pré-imaginale* : des larves de 3^{ème} stade (L3), élevées sur du milieu enrichi, sont lavées à l'eau distillée et transférées dans des tubes contenant du milieu standard et ce, juste avant l'empupement (**L**) ;
- 3) *exposition adulte pendant 96 heures (A)* : les adultes, provenant de larves élevées sur milieu standard, sont transférés, à leur éclosion, sur du milieu enrichi;
- 4) *exposition durant les 24 premières heures de la vie imaginale (0-24h)* : les adultes provenant de larves élevées sur milieu standard sont placés, à leur éclosion, sur du milieu enrichi pendant 24 heures, et sont ensuite transférés sur du milieu standard ;
- 5) *exposition imaginale pendant les 72 h qui précède le test d'oviposition (24-96h)* : les adultes, provenant de larves élevées sur milieu standard sont placés sur du milieu enrichi 24 heures après leur l'éclosion, et ce jusqu'au test ;

6 à 8) *expositions durant le premier (L1), deuxième (L2) ou troisième (L3) stade larvaire* : les larves (stade déterminé sous loupe binoculaire grâce à la conformation des spiracles — Ashburner et al. 1989) sont déposées sur du milieu enrichi et retirées 24 heures plus tard. Elles sont alors transférées sur du milieu standard après avoir été précautionneusement nettoyées à l'eau distillée. Dans tous les cas, les adultes issus de ces larves sont sexés dans les 4 heures qui suivent leur émergence, et sont maintenus en groupe de même sexe (20 pour les femelles, 10 pour les mâles) jusqu'au test.

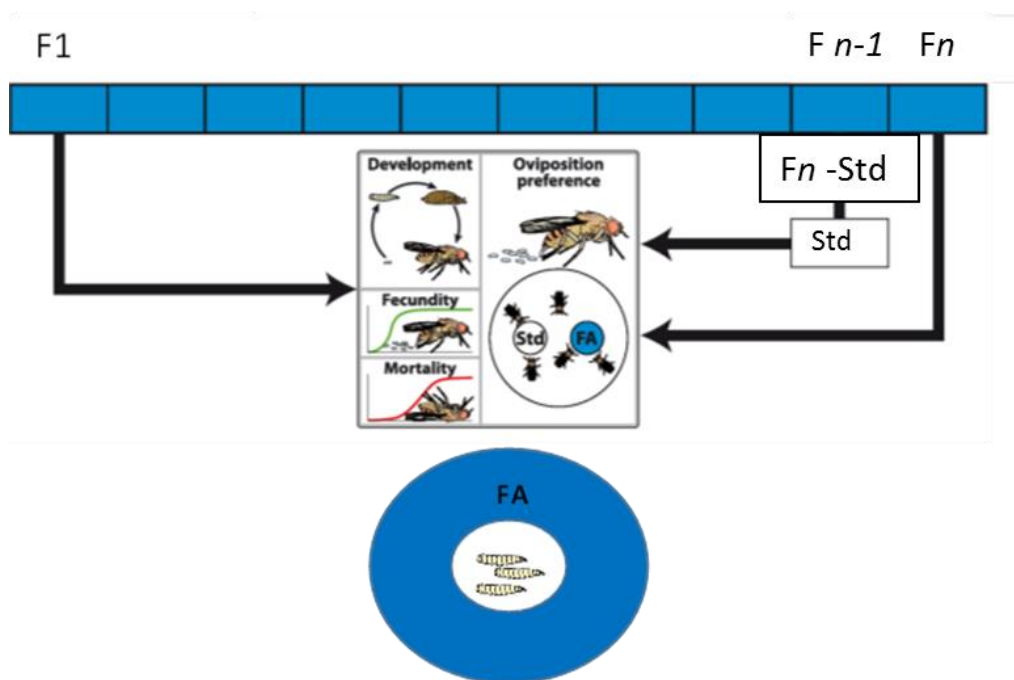


Figure 6 Processus d'exposition permanente aux milieux enrichis en AGs.

Les individus sont élevés pendant 30 générations (0.5mg/ml) ou 10 générations (5mg/ml) sur du milieu enrichi en C18:0 ou C18:1 (FA). Les préférences larvaires et d'oviposition sont mesurées toutes les 10 générations. L'impact des milieux enrichis en C18:0 ou C18:1 sur les traits de vie sont mesurés après 30 générations (0.5mg/ml) ou 10 générations (5mg/ml) sur les lignées LF-AG et sur des individus remis sur du milieu standard une génération avant les tests (F30-Std, F10-Std). En parallèle, une lignée contrôle (Di2) est maintenue sur du milieu standard.

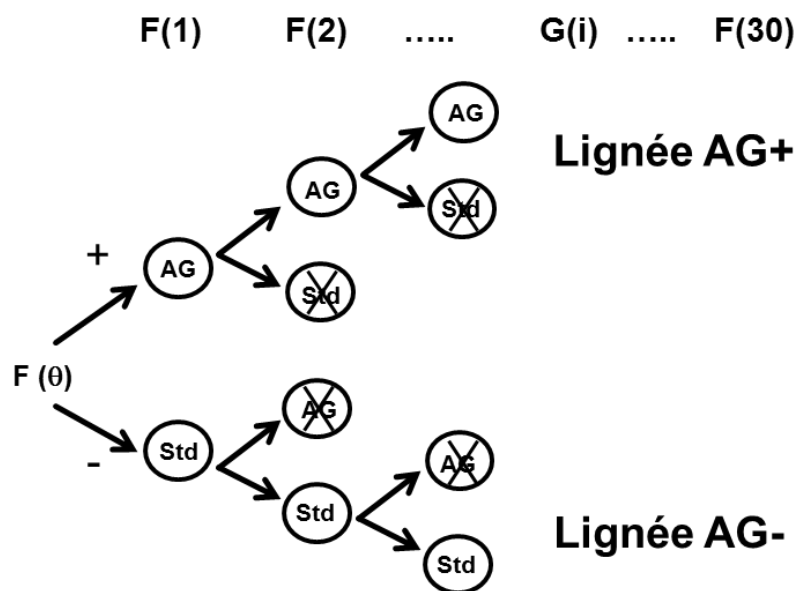


Figure 7 Processus de sélection du comportement d'oviposition.

A chaque génération, les femelles sont testées dans les dispositifs d'oviposition et les œufs préférentiellement pondus sur le milieu AG (lignée AG+) ou sur le milieu standard (lignée AG-) sont transférés par 50 dans des tubes contenant du milieu standard jusqu'à la génération suivante.

Enfin, la fécondité et la mortalité des adultes a aussi été mesurée sur des individus ayant été exposés durant leur seule vie larvaire (**L**), durant les 24 ou les 96 premières heures de leur vie imaginale (**0-24h** & **0-96h**), durant toute la vie imaginale (**A**), ou depuis l'embryon (**L+P+A**).

b. Exposition intergénérationnelle à un milieu enrichi en AG.

Des populations de la lignée Di2 sont élevées sur du milieu enrichi soit en C18:0 (lignée "*forcée*" : **LF-C18:0**), soit en C18:1 (lignée "*forcée*" : **LF-C18:1**), à 0.5 mg/ml ou à 5 mg/ml pendant, respectivement, 30 ou 10 générations. Dix tubes contenant entre 50 et 100 œufs sont conservés à chaque génération pour chacune des lignées (*Figure 6*).

Selon la dose, le comportement larvaire, et les préférences d'oviposition, ont été testés à la 1^{ère} et à la 10^{ème} génération (F10 ; dose 5 mg/ml) ou à la 1^{ère} et toutes les 10 générations jusqu'à la 30^{ème} génération (F1, F10, F20 et F30 ; dose 0.5 mg/ml).

L'impact de l'exposition permanente aux deux AGs sur différents traits de vie (mortalité, fécondité, temps développement, sex-ratio) a été mesuré, pour la dose de 5 mg/ml, après une génération complète (F1), après 10 générations (F10) ou sur des individus ayant été transférés après la 9^{ème} génération, sur du milieu standard (F10-Std). Pour la dose de 0.5 mg/ml, les mesures ont été effectuées après une génération complète (F1), après 30 générations (F30) ou sur des individus ayant été transférés après la 29^{ème} génération sur du milieu standard (F30-Std). Pour chacune des doses, les résultats obtenus sur ces lignées ont été comparés à ceux obtenus sur une lignée contrôle élevée, en parallèle, sur du milieu standard (**Ctrl**).

Les procédures de sélection

a. Sélection "adulte"

La procédure de sélection "*adulte*" se base sur le comportement de la femelle et consiste à garder la progéniture pondue sur le milieu enrichi en AG, ou sur le milieu standard, lors d'un test de choix d'oviposition (*Figure 7*).

Trois cents femelles de la lignée initiale Di2 (F0) ont eu la possibilité de pondre sur du milieu enrichi en AG (C18:0 ou C18:1 ; 0.5 mg/ml) ou sur du milieu standard, lors d'un test de préférence d'oviposition (cf. ci-dessus). Les œufs déposés sur le milieu enrichi en AG sont utilisés pour créer la première génération (F1) "**Ad-AG +**" et ont été placés, par groupe de 50, dans des tubes d'élevage contenant du milieu standard (10 répétitions). Ceux laissés sur le milieu standard ont été récupérés pour créer la première génération (F1) "**Ad-AG –**" dans les mêmes conditions.

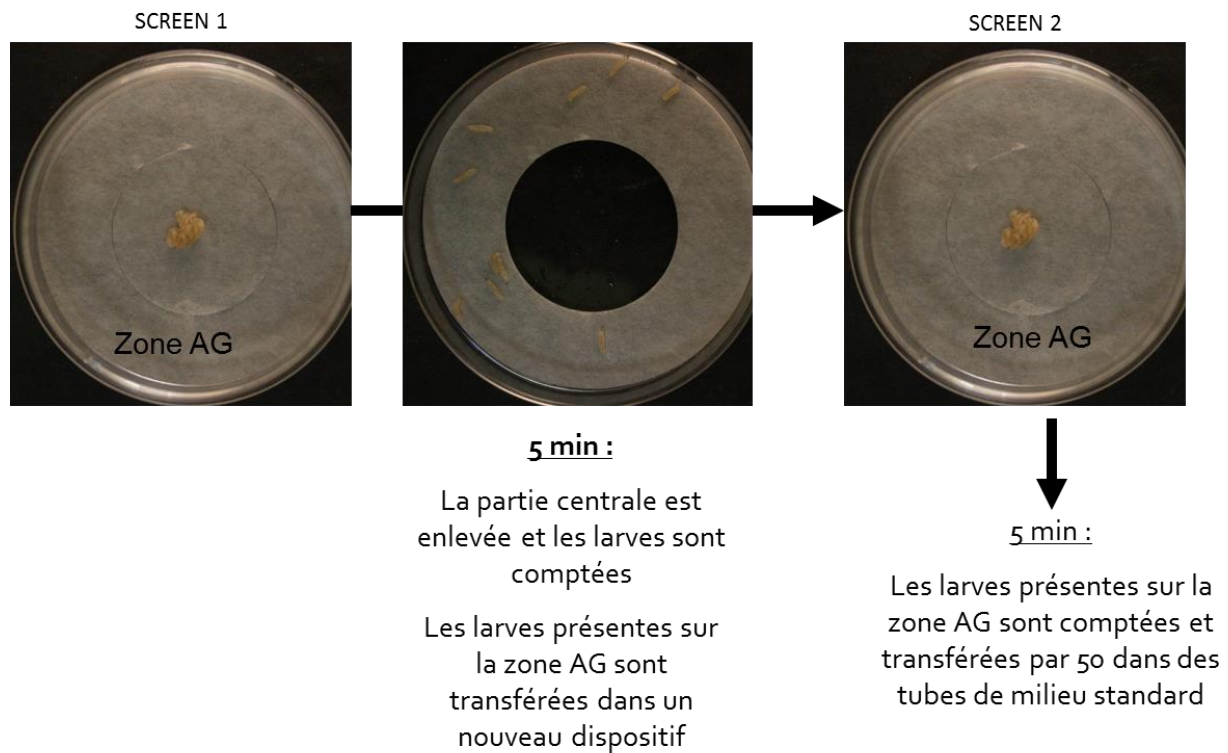


Figure 8 Processus de sélection larvaire.

Le test des préférences larvaires est appliqué deux fois à chaque génération. Les larves présentes sur la zone AG à l'issue du screen 1 sont transférées dans un nouveau dispositif identique et les larves présentes sur la zone AG à l'issue du screen 2 sont conservées sur milieu standard jusqu'à la génération suivante.

Après accouplement avec des mâles issus de la même sélection, des femelles F1 "Ad-AG +" ont été soumises au même test d'oviposition (choix entre le même milieu et un milieu standard) ; les œufs pondus sur le milieu enrichi en AG ont été utilisés afin de créer la F2 "Ad-AG +". Les femelles F1 "Ad-AG –" ont été soumises à la même procédure afin de récolter les œufs pondus sur le milieu standard qui permettront de créer la F2 "AG –". Cette procédure, répétée pendant 30 générations, a permis de sélectionner quatre lignées : **Ad-C18:0 +**, **Ad-C18:0 –**, **Ad-C18:1 +** et **Ad-C18:1 –**. A chaque génération, et pour chacune des lignées, un minimum de 10 groupes de 5 femelles a été soumis à cette procédure.

b. Sélection "larvaire"

Des groupes de 20 larves (L3 précoces, Di2) ont subi une double sélection (*Figure 8*): après avoir été soumises au test de préférence larvaires pendant 5 min (cf. ci-dessus) envers un AG (C18:0 ou C18:1 à 10 mg/ml), les individus présents sur la zone périphérique imprégnée d'AG sont récoltés (*screen 1*) et soumis une seconde fois au même test dans un nouveau dispositif contenant le même AG (*screen 2*). Après 5 minutes, les individus présents sur la zone périphérique sont récupérés et réunis par 50 dans des tubes contenant du milieu standard afin de créer la génération F1 des lignées **L-C18:0 +** et **L-C18:1 +**. Les larves (L3 précoces) issues de cette sélection, subiront la même procédure de sélection afin d'obtenir une deuxième génération (F2), cette procédure étant répétée durant 20 générations. Un minimum de 75 individus est gardé pour chacune des lignées **L-C18:0 +** et **L-C18:1 +**.

En parallèle, une lignée présélectionnée par A-S Fougeron au cours de sa thèse (2011) pour sa tolérance envers le C18 :0 (**L-C18:0 PS**) a subi le même traitement que la lignée **L-C18:0 +**.

Importance de l'olfaction dans le choix du site d'oviposition

L'importance de l'olfaction dans le choix du site d'oviposition a été testée grâce à un dispositif dérivé de celui utilisé lors des tests d'oviposition classiques : 2 ml de milieu standard, ou de milieu enrichi en AG, sont déposés dans des boîtes de Pétri (Greiner Bio-one diamètre = 35 mm, hauteur = 10 mm) recouvertes d'une gaze en nylon afin d'empêcher tout contact avec le milieu tout en laissant passer les odeurs. Un "*pondeir*" en plastique (diamètre = 10 mm, hauteur = 10 mm) contenant du milieu standard est disposé sur chacun des 2 récipients muni de gaze (*Figure 9*). Afin d'éviter tout effet de groupe, les femelles, après accouplement, sont placées individuellement dans ce dispositif. Après 20 heures, les œufs sont dénombrés sur chaque pondeir et l'indice de préférence d'oviposition est calculé comme précédemment.



Figure 9 Dispositif de test de l'implication de la modalité olfactive dans le comportement de ponte.

Le dispositif classique d'oviposition est utilisé mais une gaze de Nylon empêche les adultes d'accéder au milieu enrichi en AG tout en permettant aux odeurs de se répandre autour des « pondoires » situés sur la gaze.

Par ailleurs, des femelles appartenant à des lignées de mutants olfactifs (*ORCO*, *IR25a*, *IR8a*, *Snmp*²) ont également été testées dans un dispositif d'oviposition classique.

Préférences alimentaires chez l'adulte

Les préférences alimentaires des mâles et des femelles vierges adultes âgés de 4 jours ont été testé en choix binaire grâce au test du Bleu-Rouge (Tanimura et al. 1982) sur une microplaque à 48 puits (Plaques Minitray Nunc nucleon, 84×59mm). Les 48 puits de la plaque sont remplis alternativement par 10 µl de milieu enrichi en AG 5 mg/ml et coloré¹ (Rouge acide ou bleu erioglaucine) ou par 1 ml de milieu standard coloré de l'autre couleur. Après 24 h de jeûne, 40 adultes d'un même sexe sont placés dans le dispositif pendant 1 heure à l'obscurité. A la fin de l'expérience, les portoirs sont conservés à -10°C pendant 24 h et les individus testés sont classés selon la couleur de leur abdomen en 5 catégories, du rouge pur au bleu pur : rouge, fuschia, violet, bleu marine, bleu. Un Indice de Préférence Alimentaire (IPA) est calculé selon les formules suivantes.

Lorsque le milieu enrichi en AG est coloré en Rouge :

$$IPA = \frac{(\# \text{ Rouge}) + \left(\frac{2}{3} * \# \text{ Fuschia}\right) + \left(\frac{1}{2} * \# \text{ Violet}\right) + \left(\frac{1}{3} * \# \text{ Bleu marine}\right)}{\# \text{ Individus colorés}}$$

Lorsque le milieu enrichi en AG est coloré en Bleu :

$$IPA = \frac{(\# \text{ Bleu}) + \left(\frac{2}{3} * \# \text{ Bleu marine}\right) + \left(\frac{1}{2} * \# \text{ Violet}\right) + \left(\frac{1}{3} * \# \text{ Fuschia}\right)}{\# \text{ Individus colorés}}$$

Chaque catégorie de couleur est pondérée arbitrairement en fonction de la proportion de couleur bleu ou rouge. Par exemple, « fuschia » est considérée comme 2/3 de rouge pour 1/3 de bleu et donc seul 2/3 des individus colorés en fuschia seront pris en compte dans le calcul de l'indice de préférence pour le milieu coloré en rouge.

Afin de tester un possible effet des colorants sur la réponse des individus testés, des mâles et femelles ont eu le choix entre du milieu standard coloré en rouge et du milieu standard coloré en bleu afin de calculer des indices contrôles pour le bleu et le rouge. Les indices calculés en présence d'AG peuvent alors être exprimés relativement aux indices contrôles (% du témoin)

¹ Selon les méthodes et concentrations de Tanimura et al. 1982

Représentation des données et analyses statistiques

Comme la plupart des mesures de fitness, les indices de préférence larvaire, alimentaire ou d'oviposition, sont représentés sous forme de "boîtes à moustache". Ces représentations permettent de visualiser la valeur médiane (trait noir au centre), et les premier et troisième quartiles (Q1 et Q3 ; rectangle encadrant la médiane). Les segments de part et d'autre de la boîte (les "moustaches") indiquent les limites au-delà desquelles les valeurs sont considérées comme anormales. Ces limites sont calculées comme suit : limite inférieure = $Q1 - 1.5 \times [Q3 - Q1]$ et supérieure $Q1 + 1.5 \times [Q3 - Q1]$. Par ailleurs, les moyennes sont également représentées (croix) avec leur SEM respectives. Par souci de clarté, seule la valeur médiane a été représentée pour les expériences comprenant de nombreux résultats (sélection). Enfin, la fécondité est représentée sous forme de courbe de nombre d'œufs cumulé moyen (\pm SEM) en fonction du temps.

Les analyses statistiques sont réalisées avec le logiciel XLSTAT 2012 (Addinsoft, 2012). Les indices de préférence, mortalité, fécondité et sex-ratios sont comparés en utilisant le test de Kruskal-Wallis suivi par une procédure *post-hoc* de Conover-Iman (comparaison par paire avec correction de Bonferroni, $p = 0.05$).

Pour obtenir les TL50 correspondant au temps de développement pour chacune des conditions, une transformation Probit a été utilisée pour linéariser les données. Une régression linéaire permet ensuite de calculer le temps de développement pour lequel 50 % des individus (TD 50) ont atteint le stade pupal ou adulte (femelles et mâles). Ces TD 50 ont été comparés par le test de Kruskal-Wallis comme décrit précédemment.

Pour observer l'évolution de la préférence au cours des générations dans les expériences de sélection, le nombre total d'œufs sur le pondoir enrichi en AG ou sur le pondoir "contrôle" à chaque génération est utilisé pour construire une table de contingence (Sélection adulte : 30 x 2, sélection larvaire : 20 x 2) qui est soumise à un test de χ^2 avec calcul des résidus ajustés de Pearson pour chaque génération et chaque lignée. Ces résidus apportent une information précise de l'importance d'une génération sur le χ^2 final et sur son écart par rapport à la valeur attendue. Ces résidus, qui suivent une distribution normale centrée réduite (moyenne = 0, Ecart-type = 1), ont été utilisés pour calculer, pour chaque lignée, une analyse de régression des préférences en fonction des générations (Figure Annexe 38).

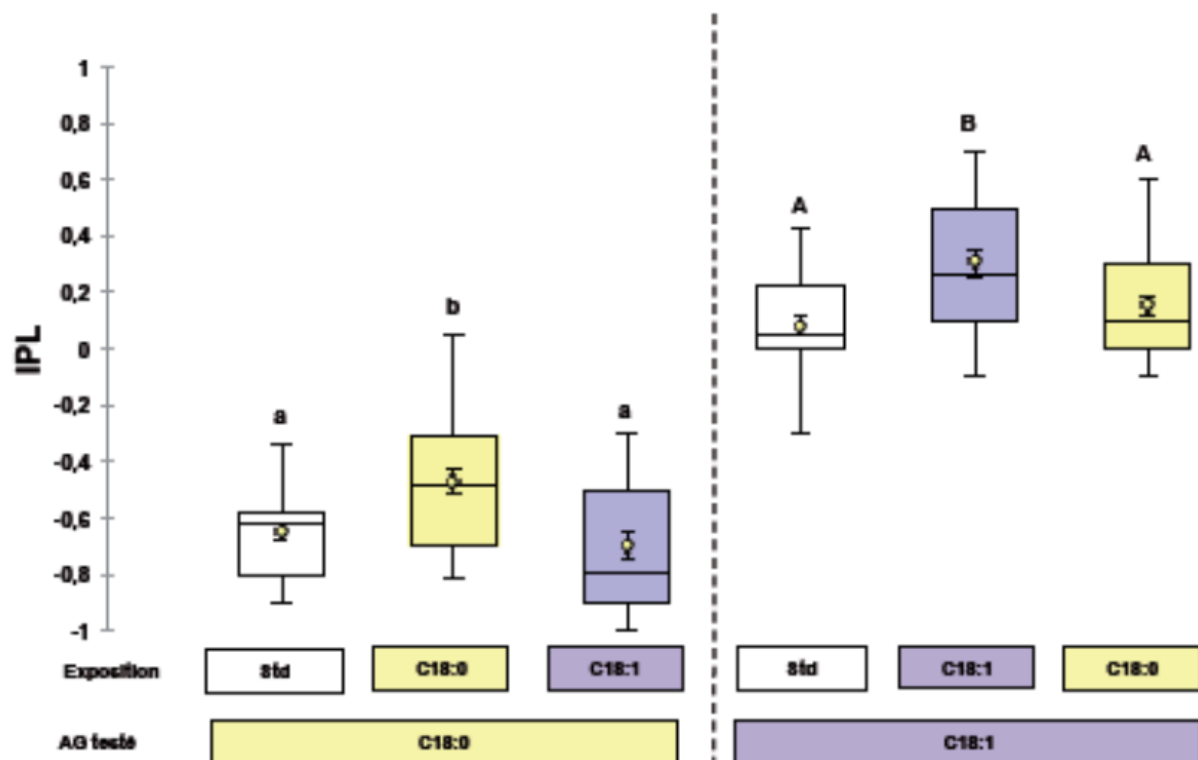


Figure 10 La préférence larvaire envers un AG est affectée spécifiquement par l'exposition à cet AG.

Les préférences larvaires pour les 2 AGs ont été mesurées sur des larves pré-exposées (72h sur milieu enrichi) au C18:0 ou au C18:1). Les Indices de Préférence Larvaires (IPLs) sont représentés sous formes de boxplot et de moyennes \pm SEM (cercles et barre d'erreur). Les lettres représentent les groupes de significativité (test de Kruskal-Wallis). $N=25$

RÉSULTATS

1. Exposition intragénérationnelle à un milieu enrichi en

AG

Les différentes réponses comportementales (préférences larvaires, oviposition adulte) ont été mesurées sur des individus élevés sur du milieu enrichi en AGs. Les comportements larvaires et adultes sont modifiés par l'exposition au milieu enrichi. Dans un deuxième temps, des individus ont été exposés durant des périodes précises de leur développement préimaginal et/ou de leur vie imaginale précoce, afin de mettre en évidence d'éventuelles périodes au cours desquelles cette exposition pouvait être efficace pour modifier le comportement d'oviposition (cf. *Figure 5*).

Préférences larvaires

Les préférences des larves exposées à partir de la phase embryonnaire jusqu'au stade L3 (pendant 72h) à un milieu enrichi en C18:0 ou C18:1 ont été testées.

L'exposition à un AG a un effet spécifique sur le comportement larvaire (*Figure 10*) : les larves pré-exposées au C18:0 sont moins repoussées par cet AG ($IPL = -0.46 \pm 0.05$; $KW_{2df} = 13.73$, $p = 0.001$) que les larves contrôles ($IPL = -0.65 \pm 0.03$) ou les larves pré-exposées au C18:1 ($IPL = -0.70 \pm 0.05$). Réciproquement, celles pré-exposées au C18:1 sont plus attirées par ce composé ($IPL = 0.31 \pm 0.05$; $KW_{2df} = 10.91$, $p = 0.004$) que les larves contrôles ($IPL = 0.09 \pm 0.03$) ou les larves pré-exposées au C18:0 ($IPL = 0.16 \pm 0.03$).

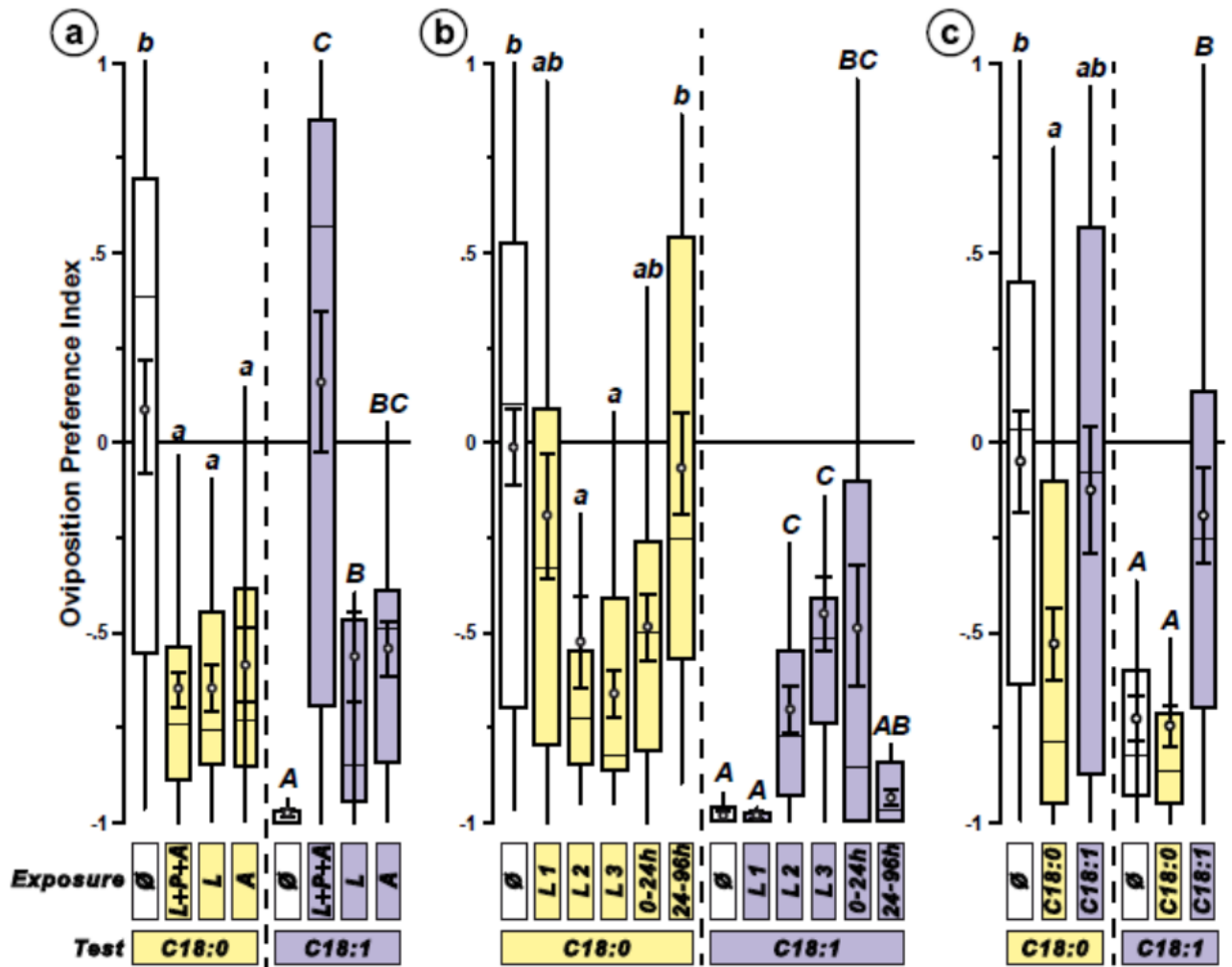


Figure 11 L'exposition transitoire aux 2 AGs affecte spécifiquement le choix du site d'oviposition par la femelle.

Différentes périodes d'exposition au C18:0 et au C18:1 ont été testées :

(a) Exposition complète (L+P+A), pré-imaginale (L) et adultes (A).

(b) Exposition lors du premier stade larvaire (L1), deuxième (L2), troisième (L3) et pendant la vie adulte : 24 premières heures (0-24 h), 72 heures avant le test (24-96h).

(c) Exposition complète (L+P+A) et test croisé avec le C18:0 et le C18:1.

Les IPOs sont représentés sous forme de boxplot et de moyennes \pm SEM (cercles et barre d'erreur). Les lettres représentent les groupes de significativité (Test de Kruskal-Wallis). $N=18-20$ (a), $18-37$ (b), $22-28$ (c).

Comportement d'oviposition

a) Périodes critiques chez les larves et les adultes

Alors que les femelles naïves sont indifférentes au C18:0 (IPO = 0.08 ± 0.16), celles exposées au milieu enrichi en C18:0 (5 mg/ml) durant leur développement larvaire (L) ou durant les 4 premiers jours de leur vie adulte (A) montrent une aversion marquée pour ce composé (*Figure 11 a* ; IPOs = -0.64 ± 0.07 et -0.58 ± 0.10 , respectivement) ; cette aversion est similaire à celle observée après une exposition complète (L+P+A) (IPO = -0.65 ± 0.07 ; $K_{3df} = 12.68$, $p < 0.0001$).

Les femelles exposées au C18:1 pendant le stade larvaire (L ; IPO = -0.56 ± 0.12) ou adulte (A ; IPO = -0.55 ± 0.07) montrent une diminution plus importante de l'aversion à cet AG par rapport aux femelles naïves (IPO = -0.98 ± 0.01) que celle observée après une exposition complète (L+P+A ; IPO = 0.16 ± 0.19 ; $K_{3df} = 29.27$, $p < 0.0001$).

Afin de mieux délimiter les périodes critiques pendant lesquelles l'exposition aux AGs a un effet, des individus ont été exposés durant des périodes, encore plus restreintes, au cours de leur vie larvaire (exposition durant chaque stade larvaire L1, L2 et L3) ou adulte (premières 24 heures de la vie imaginale ou entre la 24^{ème} et la 96^{ème} heure de la vie adulte ; *Figure 11 b*). Nos résultats montrent que le comportement d'oviposition n'est significativement modifié ($K_{5df} = 20.09$; $p = 0.001$) que chez les femelles exposées au C18:0 pendant les stades L2 (IPO = -0.52 ± 0.12) ou L3 (IPO = -0.66 ± 0.07). En ce qui concerne le C18:1, seules les expositions durant les stades L2 (IPO = -0.70 ± 0.10), L3 (IPO = -0.45 ± 0.10), et durant les 24 premières heures de la vie imaginale (IPO = -0.48 ± 0.16) réduit l'aversion des femelles pour ce composé ($K_{5df} = 48.82$; $p < 0.0001$).

b) Spécificité de la réponse d'oviposition

Afin de tester la spécificité de l'effet des AGs, des tests croisés ont été réalisés ; le comportement de femelles exposées à un AG durant tout leur développement pré-imaginal et le

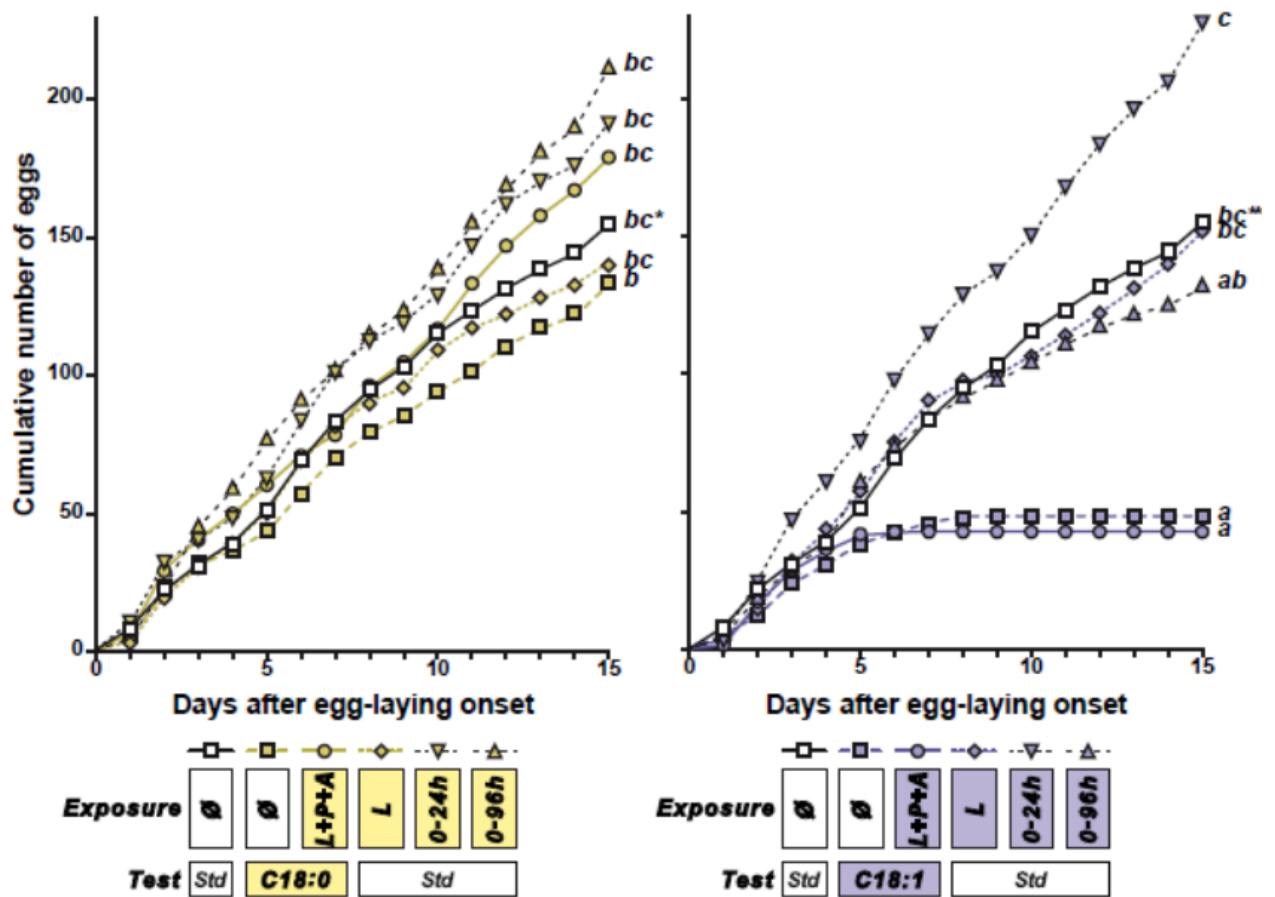


Figure 12 L'exposition temporaire au C18:0 et au C18:1 affecte différemment la fécondité.

Les données pour le C18:0 (a) et le C18:1 (b) représentent le nombre cumulé d'œuf pondus par femelle pendant 15 j. Des individus ayant subi une des 3 périodes d'exposition transitoires suivantes ont été testés sur l'AG correspondant : exposition pré-imaginale (L), exposition durant les 24 premières heures (0-24h) ou durant les 96 premières heures (0-96h) de la vie adulte. En parallèle, des individus contrôle ou ayant subi une exposition complète (L+P+A) ont été testé soit sur du milieu standard, soit sur du milieu enrichi en AG. Les données moyennes sont représentées sous forme de courbes cumulées en fonction du jour de ponte. Par souci de clarté, les SEM ne sont pas représentées. La courbe "contrôle" et le traitement statistique sont communs au 2 AGs. Les lettres représentent les groupes de significativité (ANCOVA). $N=17-20$

début de leur vie imaginale (L+P+A) a été testé face à l'autre AG (*Figure 11 c*). Comme le montrent nos résultats, l'effet de l'exposition à un des deux AGs testés est spécifique : les femelles pré-exposées au C18:0 sont plus repoussées par ce composé ($IPO = -0.53 \pm 0.14$) que par le milieu enrichi en C18:1 ($IPO = -0.12 \pm 0.18$) ou par le milieu standard ($IPO = -0.05 \pm 0.14$) ($K_{2df} = 7.01$; $p = 0.030$). Réciproquement, les femelles pré-exposées au C18:1 sont moins repoussées par celui-ci ($IPO = -0.19 \pm 0.13$) que par le C18:0 ($IPO = -0.75 \pm 0.08$) ou que par le milieu standard ($IPO = -0.72 \pm 0.07$) ($K_{2df} = 17.23$; $p < 0.0001$).

Impact d'une exposition transitoire sur la fitness

Ces résultats montrent clairement que les réponses comportementales envers les AGs sont spécifiquement modifiées par l'exposition aux AGs à certaines périodes du développement. Pour étudier les conséquences de ces expositions sur la fitness des individus, l'impact d'une exposition temporaire aux C18:0 et au C18:1 sur la fécondité et la mortalité a été évalué dans les conditions suivantes : des individus ayant été exposés durant leur développement larvaire (L), durant le premier (0-24 h) ou les 4 premiers (0-96 h) jour(s) de leur vie imaginale ont été placés sur du milieu standard. La ponte des femelles durant 15 jours et la mortalité à 22 jours ont été enregistrées. Parallèlement, des femelles naïves, ou exposées en continu à un AG (L+P+A), ont été placées sur du milieu enrichi avec ce même AG, et leur ponte a été dénombrée quotidiennement. Ces paramètres ont été comparés à la mortalité et à la fécondité d'individus naïfs maintenus sur du milieu standard.

a) Fécondité

Les différentes conditions d'exposition au C18:0 n'ont pas de conséquences significatives sur la fécondité cumulée, alors que les femelles naïves ou pré-exposées L+P+A pondent trois fois moins d'œufs sur le milieu enrichi en C18:1 (respectivement, 48.7 ± 10.2 et 44.3 ± 7.8) que les femelles naïves sur le milieu standard (153.4 ± 22.2) (*Figure 12* ; $K_{10df} = 67.26$; $p < 0.0001$). Par ailleurs, les femelles pré-exposées au C18:1 pondent autant, sinon plus, d'œufs sur le milieu standard que les femelles naïves.

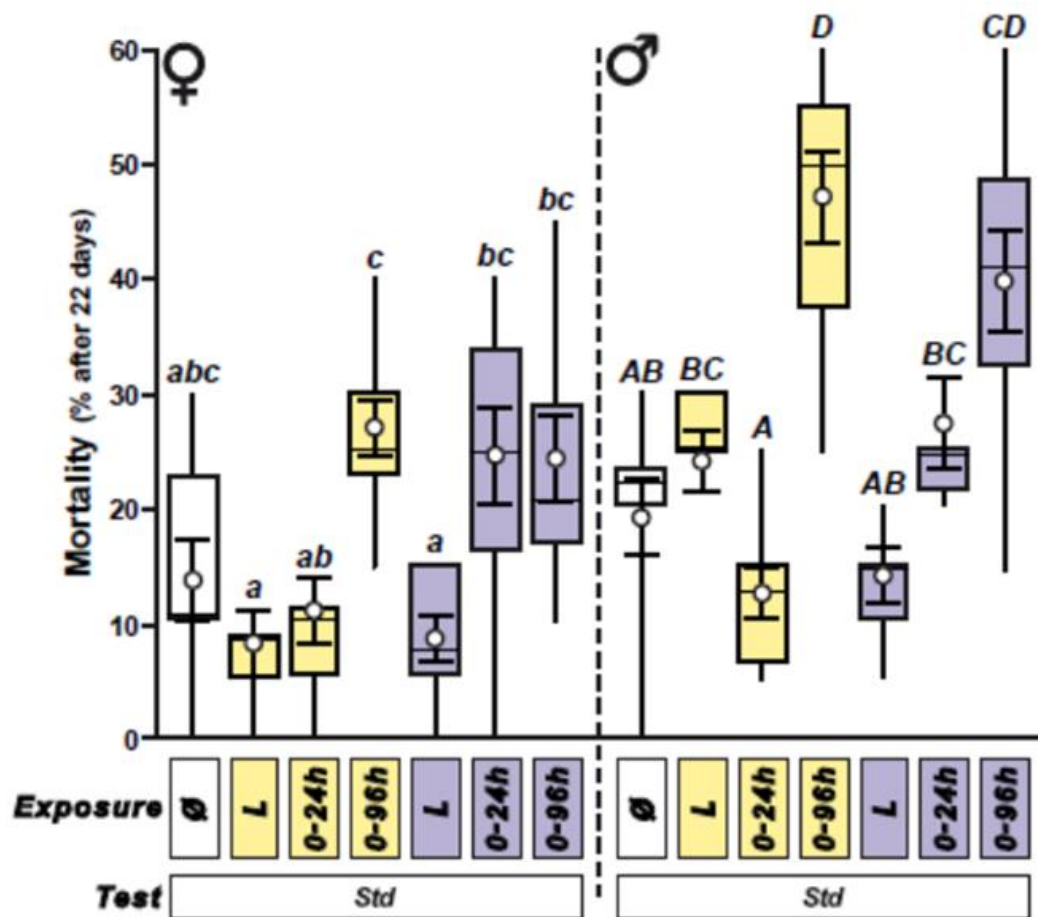


Figure 13 L'exposition transitoire aux AGs à 5 mg/mL affecte différemment la mortalité adulte.

Des groupes de femelles (à gauche) et des groupes de mâles (à droite) ayant subi 3 périodes d'exposition transitoires au C18:0 ou C18:1 (exposition pré-imaginale (L), exposition durant les 24 premières heures (0-24h) ou les 96 premières heures (0-96h) de vie imaginale) ont été replacés sur du milieu standard et leur mortalité suivie pendant 22 jours. La mortalité cumulée au 22^{ème} jour est représentée sous forme de boxplot et de moyennes \pm SEM (cercles et barre d'erreur). Les lettres représentent les groupes de significativité (test de Kruskal-Wallis). N=10

b) Survie des adultes

Alors qu'aucun effet net sur la mortalité des femelles qui ont subi des expositions temporaires au C18:0 ou au C18:1 n'a pu être mis en évidence, l'exposition des mâles à chacun des AGs durant les 4 premiers jours de vie adulte double leur taux de mortalité à 22 jours (47.0 ± 4.0 % pour le C18:0 et 39.66 ± 4.4 % pour le C18:1) par rapport aux contrôles (19.1 ± 3.4 %) (*Figure 13*; K6df = 40.08, $p < 0.001$).

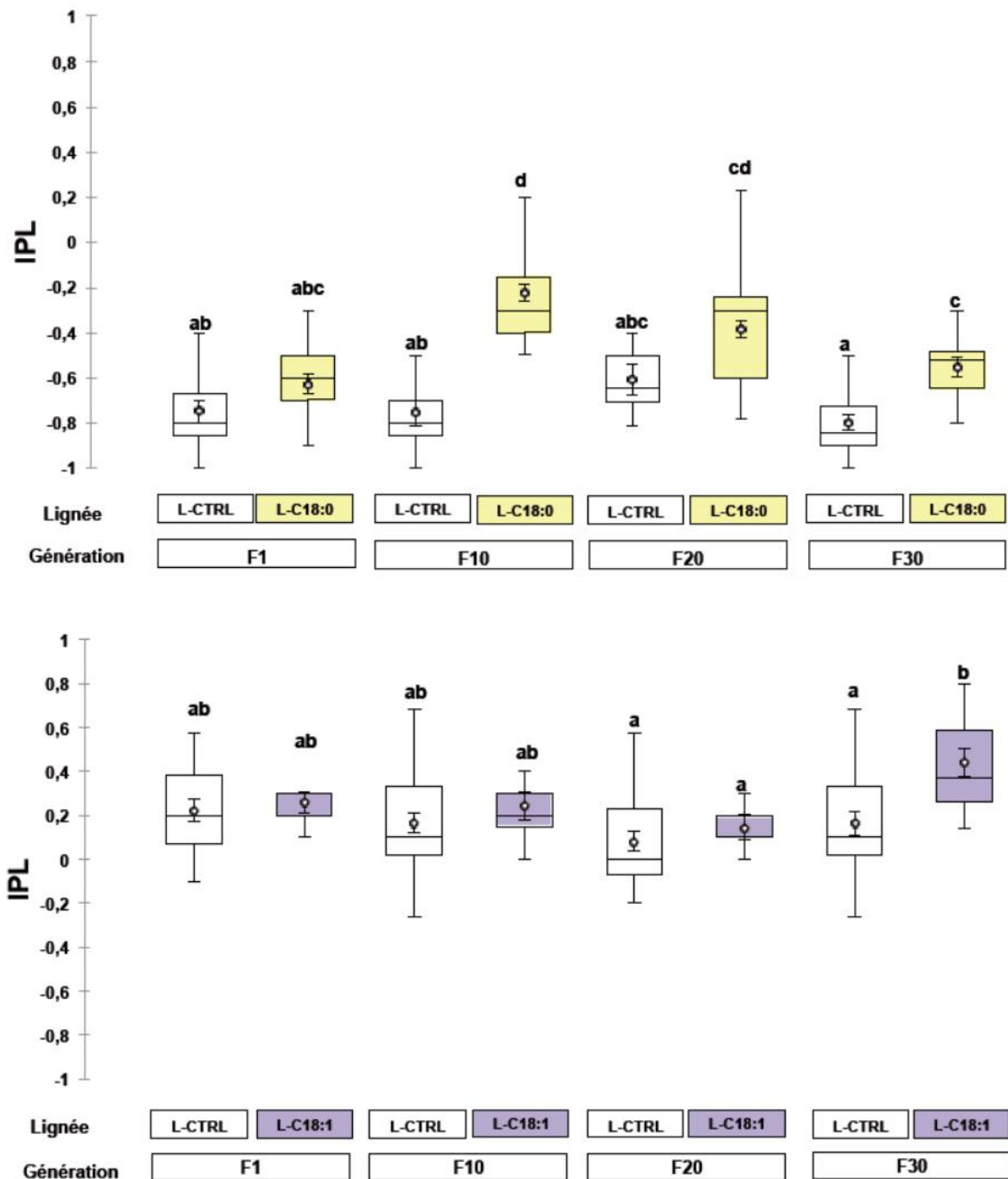


Figure 14 L'exposition transitoire aux AGs à 5 mg/mL affecte différemment la mortalité adulte.

Les préférences larvaires pour un AG ont été mesurées sur la 1^{ère}, la 10^{ème}, la 20^{ème} et la 30^{ème} générations des lignées exposées en permanence à cet AG (0.5 mg/mL) (LF-C18:0, en haut, et LF-C18:1, en bas). Les Indices de Préférence Larvaires (IPLs) sont représentés sous formes de boxplot et de moyennes (o) avec leur SEM. Les lettres représentent les groupes de significativité (test de Kruskal-Wallis). N=20

2. Exposition intergénérationnelle à un milieu enrichi en AG.

Nous avons montré qu'une exposition sur un milieu enrichi en AGs pendant une seule génération est suffisante pour modifier les préférences envers les AGs chez la drosophile. Cette modification perdure-t-elle après plusieurs générations passées sur un milieu enrichi en AGs ? Pour répondre à cette question, des populations ont été élevées sur du milieu enrichi en AG pendant plusieurs générations et leurs préférences ainsi que leurs traits de vie ont été mesurés. Pour étudier un potentiel effet dose-réponse, deux concentrations ont été utilisées pour lesquelles les comportements des individus naïfs sont neutres (0.5mg/ml) ou très marqués (5 mg/ml).

A. Exposition à un milieu à 0.5 mg/ml

Evolution des préférences larvaires

Si les larves de la lignée contrôle, quel que soit le nombre de générations, sont toujours repoussées par le C18:0 (IPLs — Indices de Préférence Larvaire — variant entre -0.80 ± 0.05 et -0.60 ± 0.05 pour la **L-Ctrl**), le comportement des larves est différent lorsqu'elles sont exposées de façon permanente au C18:0 — **LF-C18:0_(0.5)** — ($K_{7df}=59.11$; $p<0.0001$; *Figure 14*) ; à partir de la 10^{ème} génération, les larves sont moins repoussées par cet AG (IPLs variant entre -0.55 ± 0.05 et -0.23 ± 0.06). Par contre, l'exposition au C18:1 — **LF-C18:1_(0.5)** — n'affecte le comportement larvaire qu'à la 30^{ème} génération (IPL = 0.44 ± 0.06 pour **LF-C18:1_(0.5)** vs. IPL = 0.17 ± 0.06 pour **L-Ctrl** ; $K_{7df}=21.35$; $p=0.003$; *Figure 14*).

Evolution des préférences d'oviposition

L'exposition permanente à un milieu enrichi en C18:0 — **LF-C18:0_(0.5)** — n'affecte pas le comportement de ponte des femelles : leur préférence d'oviposition (IPO = Index de Préférence d'Oviposition) face à cet AG reste identique à celle des femelles contrôles, que ce soit après 1, 10, 20 ou 30 générations d'exposition (IPOs variant entre -0.26 ± 0.12 et 0.07 ± 0.13 vs. IPOs variant entre -0.07 ± 0.2 et 0.07 ± 0.11 pour la **L-Ctrl**; $K_{7df}=6.86$; $p=0.55$). Par contre, l'exposition des individus au C18:1 — **LF-C18:1_(0.5)** — pendant une génération augmente l'attraction des femelles pour ce composé (IPO = 0.63 ± 0.18) mais, par la suite, cette préférence diminue à partir de la

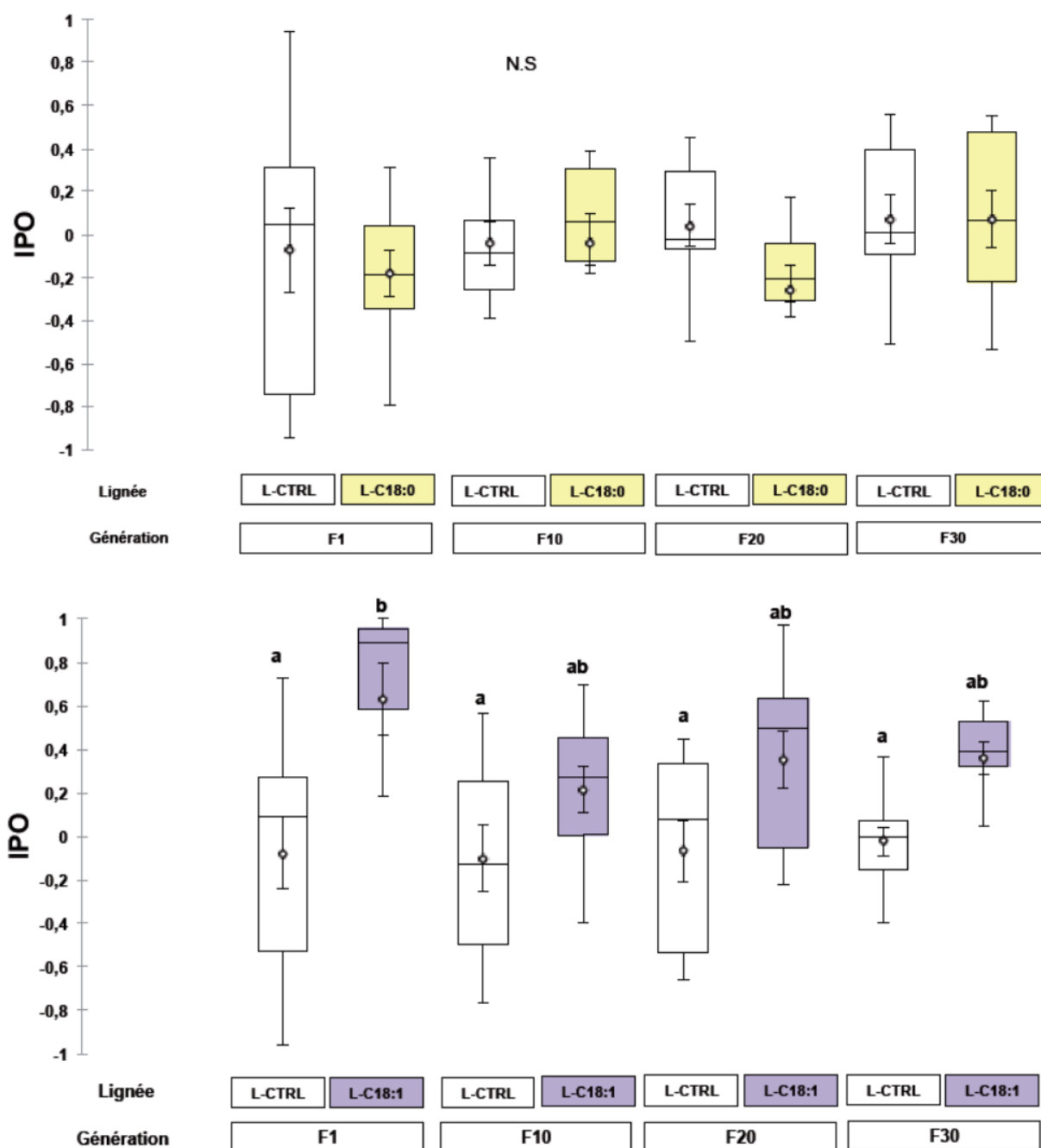


Figure 15 L'exposition permanente à un milieu enrichi en C18:1 à 0.5 mg/mL modifie le comportement d'oviposition au cours des générations.

Les préférences d'oviposition pour un AG ont été mesurées sur les 1^{ère}, la 10^{ème}, la 20^{ème} et la 30^{ème} générations des lignées exposées en permanence à cet AG (0.5 mg/ml) (LF-C18:0, en haut, et LF-C18:1, en bas). Les Indices de Préférence d'Oviposition (IPOs) sont représentés sous formes de boxplot et de moyennes (o) avec leur SEM. Les lettres représentent les groupes de significativité (test de Kruskal-Wallis). N=10

10^{ème} génération (en F10, IPO = 0.21 ± 0.10 pour LF-C18:1_(0.5) vs. -0.11 ± 0.15 pour L-Ctrl ; $K_{7df}=22.39$; $p=0.002$, *Figure 15*).

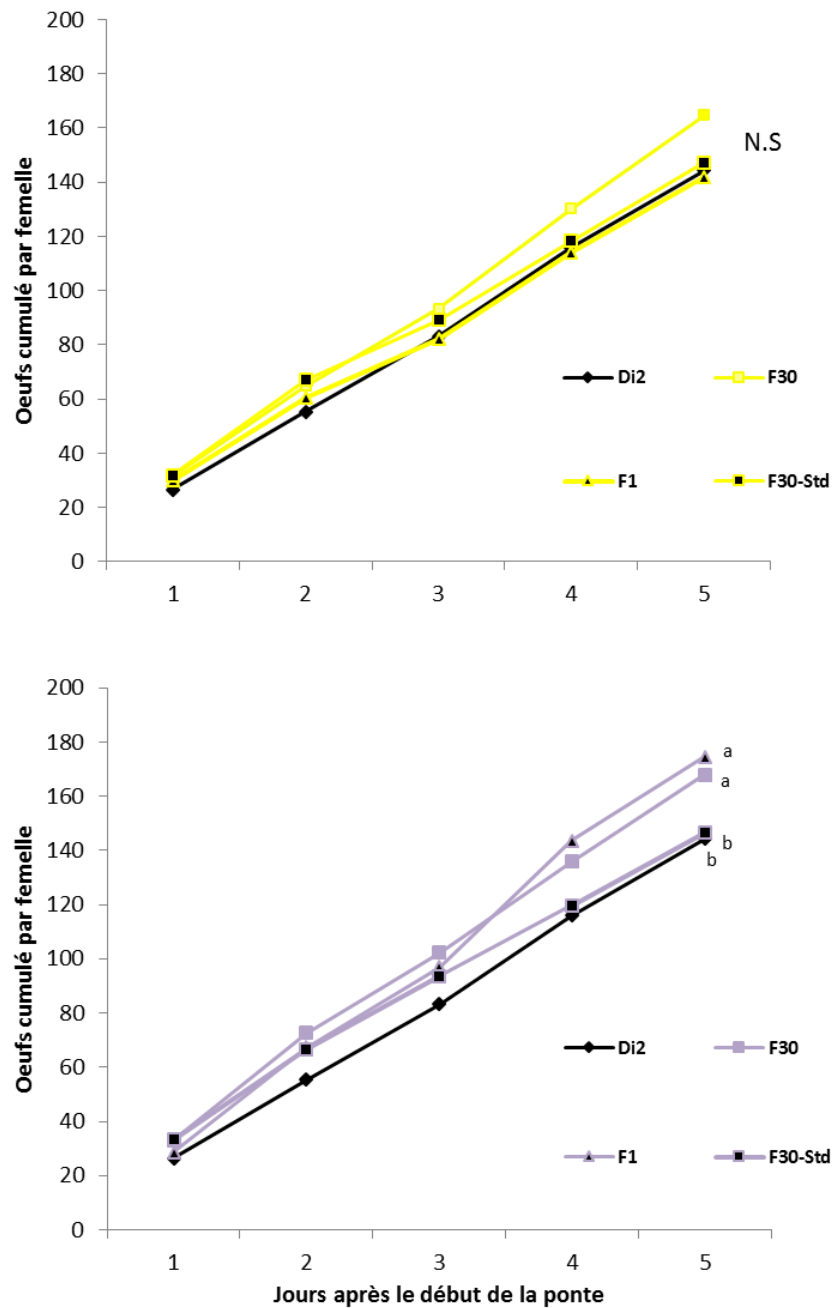


Figure 16 *L'exposition au milieu enrichi en C18:1 à 0.5 mg/ml augmente la fécondité.*

La fécondité d'individus provenant de lignées exposées durant 1 ou 30 génération(s) à un milieu enrichi en AG a été mesurée durant 5 jours et comparée à celles d'individus issues de la lignées contrôle ou remis sur du milieu standard après la 29^{ème} génération d'exposition (F30-Std) (LF-C18:0, en haut, et LF-C18:1, en bas).

Les résultats (œufs cumulés par femelle) sont représentés en fonction de l'âge de la femelle. Par souci de lisibilité, seule la moyenne (et pas la SEM) sont représentées. Les lettres représentent les groupes de significativité (test de Kruskal-Wallis) N=18-20

Impact sur les traits de vie

Les traits de vie des LF-C18:0_(0.5), LF-C18:1_(0.5) et L-Ctrl ont été mesurés sur les individus des F1 et F30 ainsi que sur des individus élevés pendant 29 générations sur milieu enrichi en AG et transférés sur milieu standard à la 30^{ème} génération (F30-Std) (ceci, afin de vérifier l'hypothèse d'un possible effet direct de l'exposition à ces AGs).

Fécondité et viabilité embryonnaire

L'exposition permanente au C18:1 affecte le nombre d'œufs pondus durant les 5 premiers jours de vie imaginale des femelles des générations F1, F30 et F30-Std (*Figure 16* ; $K_{3df} = 12.1$, $p = 0.007$) : si les femelles issues des lignées exposées au C18:1 durant 1 ou 30 générations pondent le même nombre d'œufs sur le milieu enrichi en cet AG (respectivement 174.60 ± 6.00 et 167.80 ± 7.8 œufs), ces dernières pondent significativement plus que les femelles mises à pondre sur milieu contrôle (144.33 ± 5.52 œufs) ou replacée sur du milieu standard pour la 30^{ème} génération (F30-Std, 146.47 ± 7.58 œufs).

Quelle qu'en soit la durée, l'exposition permanente au C18:0 n'a pas d'influence sur le nombre d'œufs pondus en 5 jours (*Figure 16* ; $K_{3df} = 7.60$, $p = 0.08$). De plus, l'exposition permanente à l'un ou l'autre des deux AGs (à 0.5 mg/ml) n'affecte en rien la viabilité embryonnaire (de $98.28 \pm 0.4\%$ à $97.28 \pm 0.59\%$ pour LF-C18:0_(0.5) — $K_{3df} = 6.90$, $p = 0.074$ — et entre 98.23 ± 0.50 à 93.2 ± 2.60 pour LF-C18:1_(0.5) — $K_{3df} = 5.80$, $p = 0.123$).

Temps de développement pré-imaginal

Le temps de développement des individus jusqu'à l'âge adulte a été mesuré en observant deux étapes critiques du développement des individus : la nymphose et l'émergence des adultes mâles et femelles. Pour chacune de ces étapes, nous avons déterminé le temps de développement 50 moyen (T 50), c'est-à-dire le temps nécessaire pour que 50 % de la population passe l'étape.

Nos résultats montrent que, contrairement à l'exposition permanente au C18:1, celle au C18:0 augmente légèrement le temps de développement larvaire (embryon à pupa) des individus de la 1^{ère} génération (6.17 ± 0.08 j) par rapport à celui observé dans les contrôles (5.74 ± 0.12 j) mais cet effet disparaît après 30 générations d'exposition (5.78 ± 0.02 j) (*Figure 17*; $K_{6df} = 27.10$, $p = 0.001$).

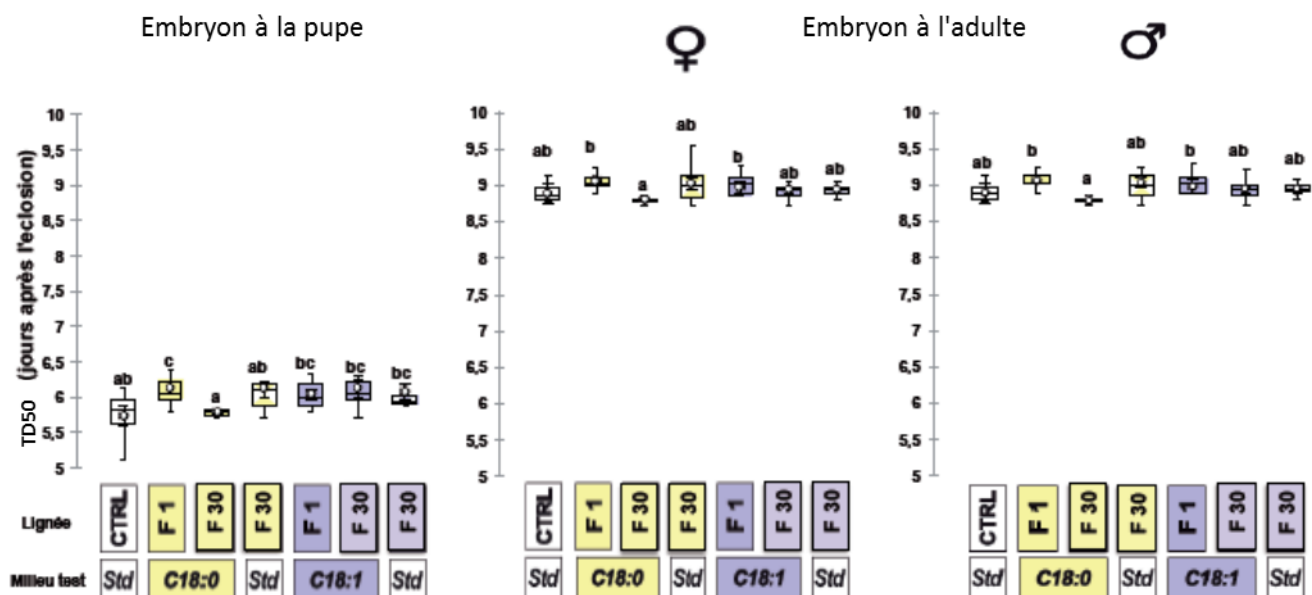


Figure 17 L'exposition permanente au C18:0 (0.5 mg/mL) durant la 1ère génération augmente le temps de développement.

Le temps de développement (TD 50 jusqu'à l'empupement de 50 % des larves, et jusqu'à l'émergence de 50 % des femelles et de 50 % des mâles) a été estimé sur des individus des lignées **LF-C18:0** et **LF-C18:1** après 1 et 30 générations (F1 & F30), ainsi que sur des individus provenant de la 29^{ème} génération et accomplissant leur développement sur du milieu standard (F30-Std), et comparé à celui des larves contrôles (CTRL). Les TD50 sont représentés sous formes de boxplot et de moyennes \pm SEM (cercles et barre d'erreur). Les lettres représentent les groupes de significativité (test de Kruskal-Wallis). $N=9-10$

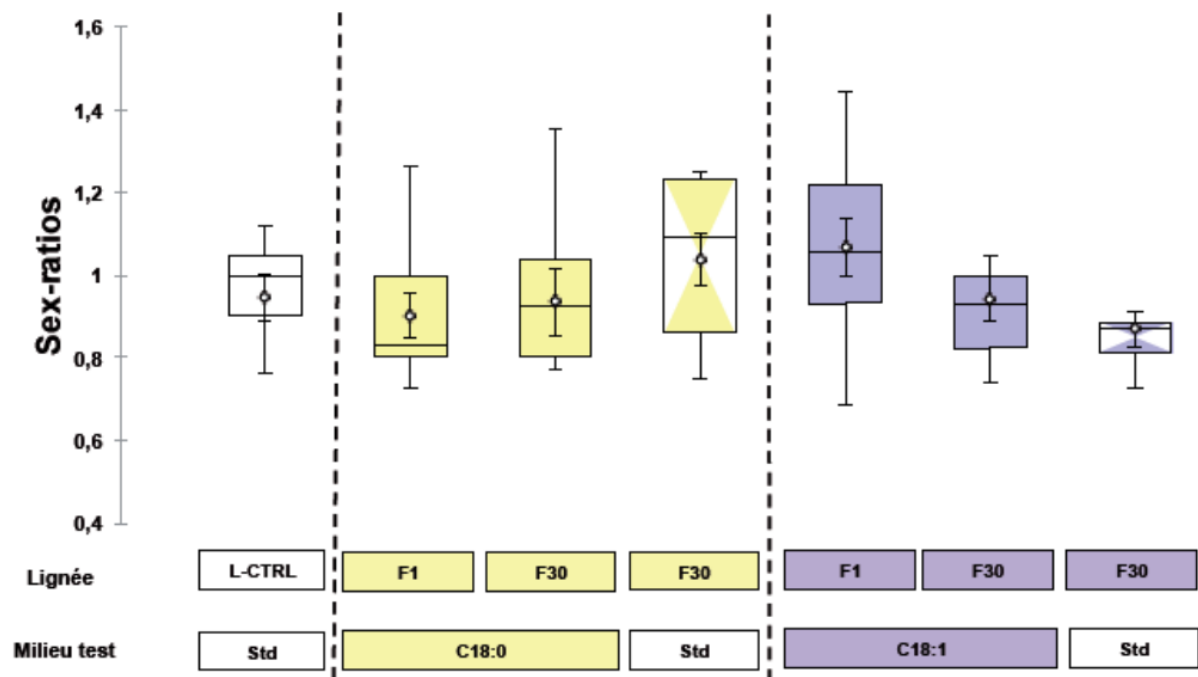


Figure 18 Le sex-ratio des adultes n'est pas affecté par une exposition permanente aux milieux enrichis (0.5 mg/mL).

Le sex-ratio (F/M) a été mesuré à l'émergence d'adultes issus des lignées LF-C18:0 et LF-C18:1 après 1 et 30 générations (F1 & F30), et d'adultes issus de la 29^{ème} génération replacée sur du milieu standard (F30-Std), et comparé à celui observé dans la lignée contrôle (CTRL). Les lettres représentent les groupes de significativité (test de Kruskal-Wallis). $N=10$

Ce retard disparaît durant le stade pupal, et il n'y a plus aucune différence concernant les durées totales de développement pré-imaginal entre les durées d'exposition au C18:0 (Figure 17).

De plus, l'exposition permanente à l'un ou l'autre des AGs n'affecte pas le sex-ratio des adultes émergents (SRs variant entre 0.87 ± 0.04 et 1.04 ± 0.07 , $K_{6df} = 5.46$, $p = 0.45$, Figure 18).

Survie des adultes

A 22 jours, quel que soit leur sexe (Figure 19 : $K_{6df} = 39.00$ — $p < 0.0001$ pour les femelles et $K_{6df} = 40.00$ — $p < 0.0001$ pour les mâles), seuls les individus de la lignée LF-C18:1(0.5) montrent une mortalité deux fois plus importante (femelles : entre 23.00 ± 1.6 % et 22.00 ± 2.26 % ; mâles : entre 27.50 ± 1.70 % et 22.50 ± 1.6 %) que celle des individus contrôles (10.5 ± 1.17 % pour les femelles et 10.00 ± 1.05 % pour les mâles). Si aucune différence de mortalité entre les F1 et les F30

des LF-C18:1_(0.5) n'a pu être mis en évidence, la mortalité des individus F30-Std n'est pas différente de celle des individus de la L-Ctrl (femelles : 7.00 ± 1.52 %, mâles : 6.05 ± 1.03 %). La différence observée entre LF-C18:1_(0.5) et L-Ctrl est vraisemblablement due à un effet direct de l'exposition au C18:1. Aucune mortalité n'est observée sur le C18:0 quelle que soit la lignée d'exposition (mortalité variant entre 8.01 ± 2 % et 8.5 ± 1.16 % pour les femelles, et entre 11.5 ± 1.31 % et 13.45 ± 1.98 % pour les mâles).

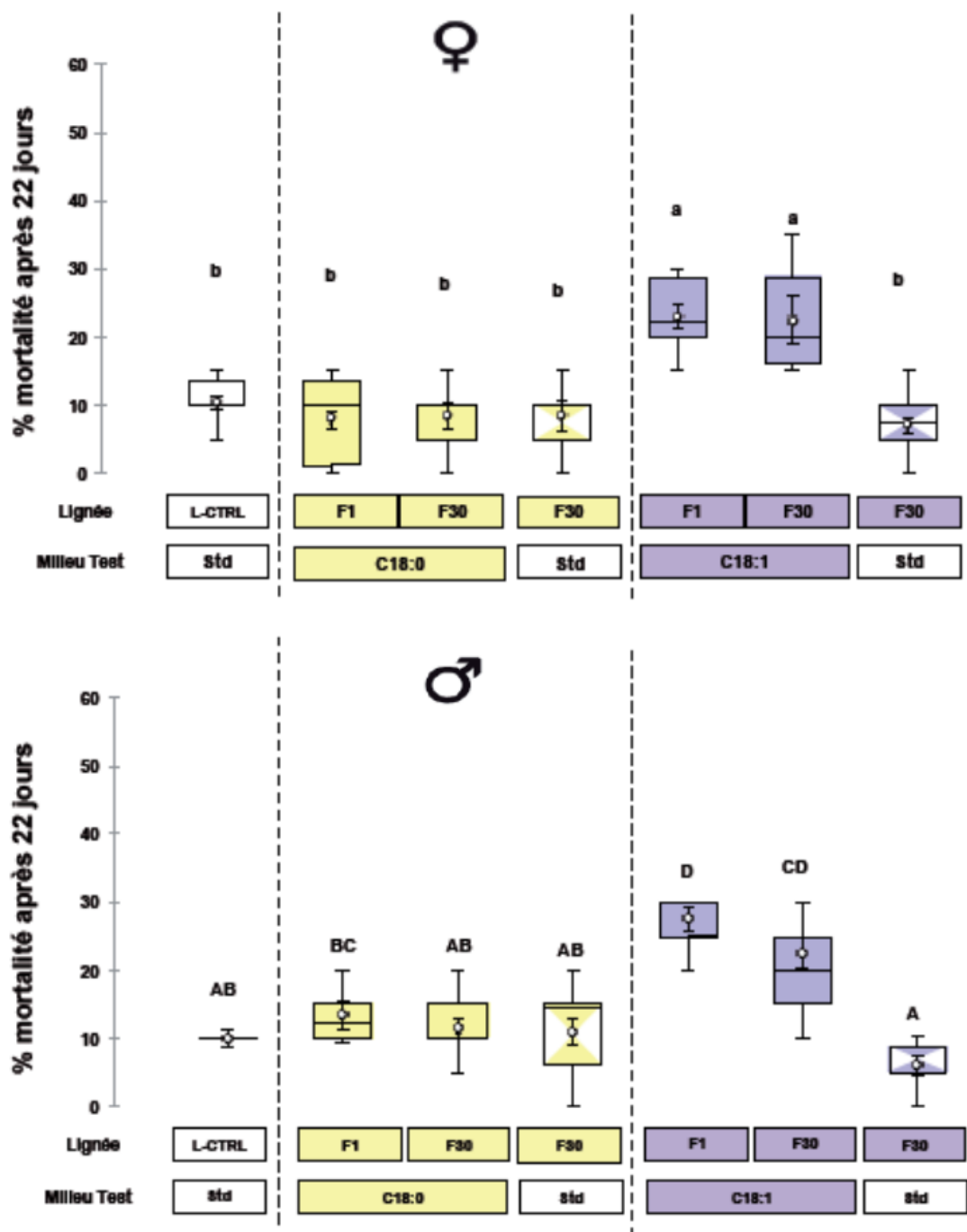
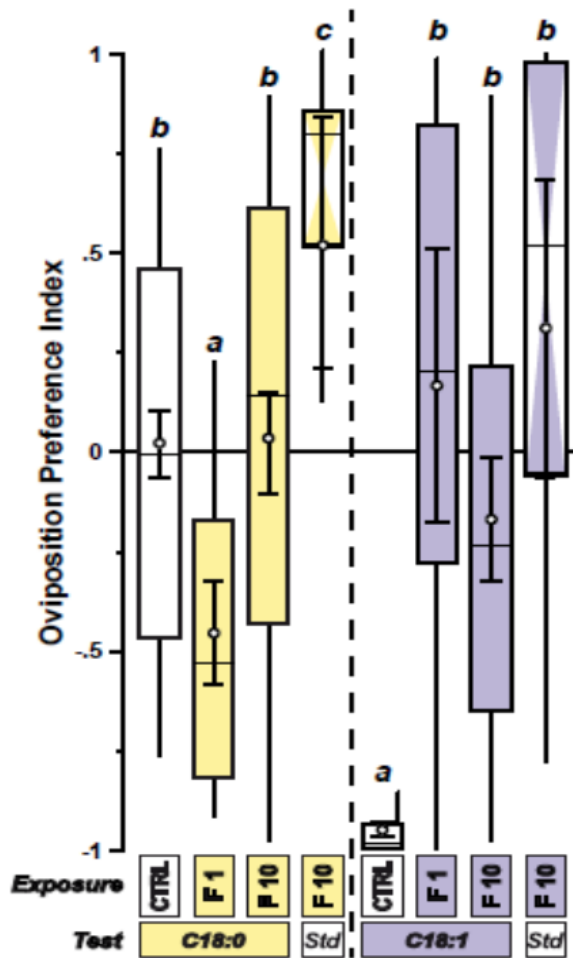


Figure 19 L'exposition à un milieu enrichi en C18:0 ou en C18:1 à 0.5 mg/mL influence différemment la mortalité des adultes selon l'AG considéré.

La mortalité cumulée des adultes (à 22 jours ; femelles en haut et mâles en bas) a été comparée entre des individus issus des lignées LF-C18:0 et LF-C18:1 après 1 et 30 générations (F1 & F30), issus de la 29^{ème} génération replacée sur du milieu standard (F30-Std), et issu de la lignée contrôle (CTRL). Les taux de mortalité sont représentés sous forme de boxplot et de moyennes \pm SEM (cercles et barre d'erreur). Les lettres représentent les groupes de significativité (test de Kruskal-Wallis). N=10



Les préférences d'oviposition (IPO) pour le C18:0 (à gauche) ou le C18:1 (à droite) ont été mesurées sur des femelles provenant de lignées exposées à un milieu enrichi avec le même AG (L-C18:0 ou L-C18:1) pendant 1 ou 10 générations et sur des individus transférés sur milieu standard après la 9^{ème} génération d'exposition (F10-Std), et comparées à celles des femelles de la lignée contrôle (CTRL). Les IPOs sont représentés sous forme de boxplot et de moyennes \pm SEM (cercles et barre d'erreur). Les lettres indiquent des groupes de significativité différents (test de Kruskal-Wallis). N=10-25

Figure 20 L'exposition sur milieu enrichi (5mg/mL) pendant 1 ou 10 générations affecte le choix du site d'oviposition par les femelles.

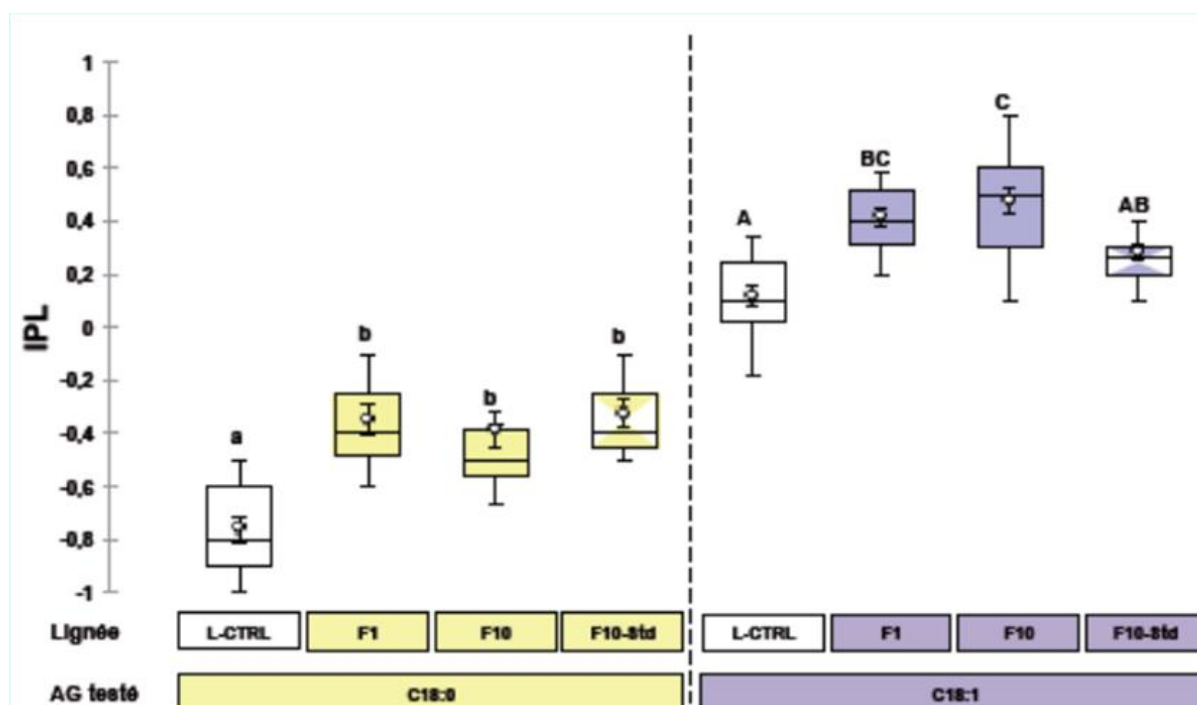


Figure 21 L'exposition permanente durant une génération à un milieu enrichi en AG (5 mg/mL) suffit à changer les préférences larvaires.

Les préférences larvaires pour le C18:0 (à gauche) ou le C18:1 (à droite) ont été testées sur des individus issus des lignées L-C18:0 et L-C18:1 après 1 ou 10 générations, ou transférés sur milieu standard après la 9^{ème} génération (F10-Std). Les IPLs sont représentés sous forme de boxplot et de moyennes \pm SEM (cercles et barre d'erreur). Les lettres indiquent des groupes de significativité différents (test de Kruskal-Wallis). N=15-20

B. Exposition à un milieu à 5 mg/ml

Les résultats obtenus avec une concentration neutre pour les individus naïfs n'ayant pas permis d'observer des effets très marqués, une dose plus importante en AGs a été utilisée. En revanche, nous n'avons pas eu le temps d'atteindre le même nombre de générations que précédemment et avons effectué toutes les mesures après 10 générations. Nous avons comparé les préférences larvaires et d'oviposition, ainsi que différents traits de vie, après un cycle complet sur milieu enrichi en AG à 5 mg/ml (F1), après 10 générations passées sur ce milieu (F10), et sur des individus élevés pendant 9 générations sur milieu enrichi puis transférés sur milieu standard à la 10^{ème} génération (F10-Std).

Evolution des préférences larvaires.

L'exposition à un milieu enrichi en C18:0 diminue durablement l'aversion des larves pour cet AG, quel que soit le nombre de générations exposées (Figure 21, IPLs = -0.35 ± 0.06 (F1 et F10

LF-C18:0₍₅₎) vs. -0.76 ± 0.05 (L-Ctrl) ; $K_{3df} = 29.6$, $p < 0.0001$) ou lorsque les individus sont transférés sur milieu standard après 9 générations (F10-Std; IPL = -0.322 ± 0.05).

A l'inverse, l'exposition à un milieu enrichi en C18:1 augmente durablement la préférence larvaire pour cet AG ($> 0.42 \pm 0.03$ — LF-C18:1₍₅₎ — vs. 0.12 ± 0.042 — L-Ctrl ; $K_{3df} = 27.6$, $p < 0.0001$) mais cette augmentation disparaît dans la F10-Std (IPL = 0.28 ± 0.03).

Evolution des préférences d'oviposition

Alors que les femelles contrôles sont indifférentes au C18:0 (IPO = 0.04 ± 0.16), les femelles exposées à cet AG durant une génération sont repoussées par ce composé (IPO = -0.5 ± 0.16). Cette aversion disparaît après 10 générations (IPO = 0.06 ± 0.20) et les femelles F10-Std sont même attirées par le C18:0 (IPO = 0.5 ± 0.15) (*Figure 20*; $K_{3df} = 14.19$, $p = 0.003$).

Contrairement au C18:0, l'exposition permanente au C18:1 induit une diminution drastique et durable de l'aversion au C18:1 par rapport à celle présentée par les femelles naïves ($K_{3df} = 36.6$, $p < 0.001$; IPO = 0.2 ± 0.26 — F1 — et -0.16 ± 0.19 — F10) et ce, même après retour sur le milieu standard (F10-Std : IPO = 0.31 ± 0.29).

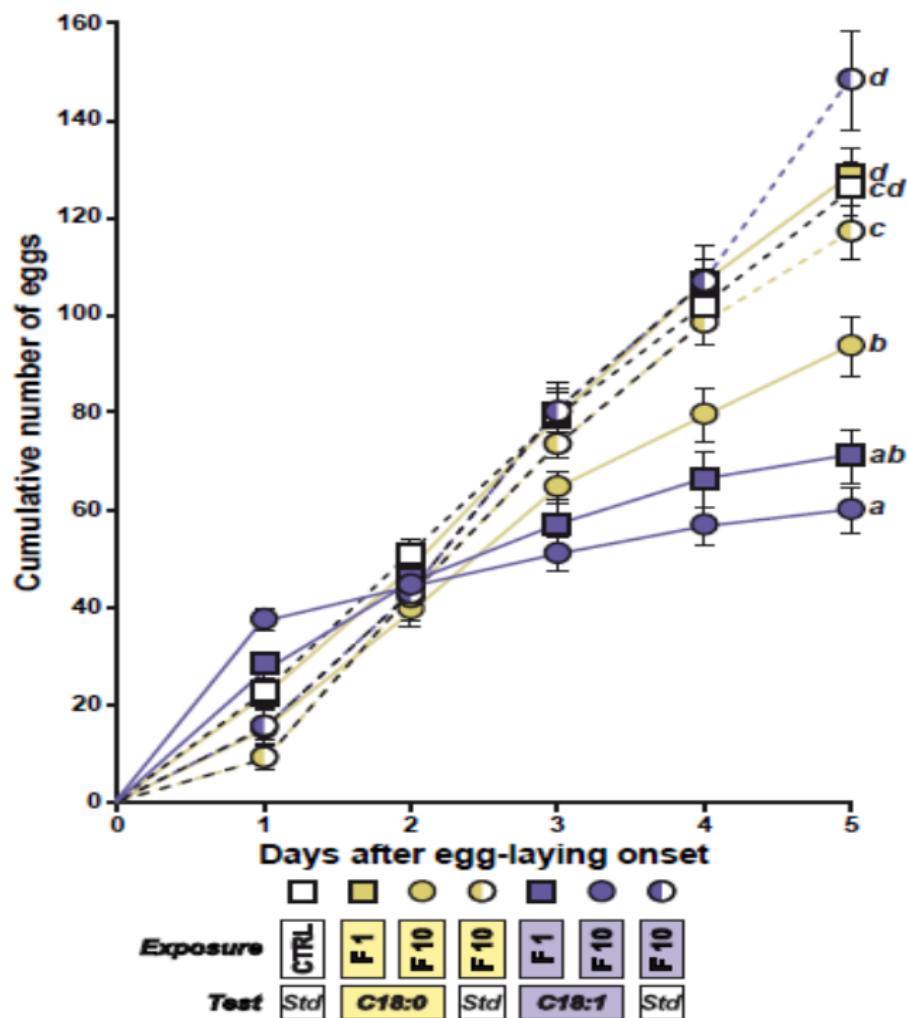


Figure 22 Les expositions permanentes aux milieux enrichis en C18:0 ou C18:1 affectent différemment la fécondité en fonction de l'AG et de la durée d'exposition.

Les œufs pondus par des femelles issues d'une lignée élevée sur milieu enrichi en AG (LF-C18:0 et LF-C18:1) durant 1 ou 10 générations ont été dénombrés durant 5 jours, ainsi que ceux de femelles transférées sur milieu standard après la 9^{ème} génération d'exposition (F10-Std). Ces données, ainsi que celles obtenues pour la lignée contrôle (CTRL) sont représentées sous forme de courbes de moyennes avec les SEM correspondantes. Les lettres représentent les groupes de significativité (ANCOVA). (N= 14-16)

Impact sur les traits de vie

a. Fécondité, viabilité embryonnaire et larvaire

Que ce soit après 1 ou 10 générations passées sur le milieu enrichi en C18:1, les femelles testées pondent significativement moins d'œufs en 5 jours sur ce milieu que ne le font les femelles contrôles (*Figure 22*: 71.40 ± 6.92 et 60.47 ± 4.89 œufs pour la F1 et la F10, respectivement, vs. 125.13 ± 5.69 œufs pour les contrôles ; ANCOVA : $F_{7df} = 137.52$, $p < 0.0001$). De la même façon, les femelles ayant passé 10 générations sur le milieu enrichi en C18:0 pondent également moins d'œufs (93.50 ± 5.81) que les femelles contrôles. Ces réductions de fécondité disparaissent lorsque que les individus sont retransférés sur un milieu standard après la 9^{ème} génération (F10-Std, 116.77 ± 6.49 pour la LF-C18:0₍₅₎ et $148.13 \pm 10,30$ pour la LF-C18:1₍₅₎).

Quel que soit le nombre de générations exposées, la viabilité embryonnaire au sein de la lignée LF-C18:1₍₅₎ (entre 83.40 ± 2.78 et 91 ± 2.5 %) n'est pas différente de celle de la lignée contrôle (86.67 ± 3.00 ; *Figure 23* : $K_{6df} = 14.09$, $p = 0.029$). En revanche, la viabilité embryonnaire des œufs de la F1 (= exposés 24 h ; 94.53 ± 1.95 %) ou de la F10 (94.40 ± 1.95 %) de la LF-C18:0₍₅₎ est supérieure à celle observée sur les œufs contrôles. Cependant, cet effet disparaît lorsque les œufs sont remis sur du milieu standard (F10-Std, 86.46 ± 1.87 %).

Le taux de survie larvaire (entre 99.03 ± 1.2 et 100 ± 0.00 %) est constant quel que soient les milieux et les durées d'exposition (*Figure 23*, $K_{6df} = 14.56$, $p = 0.029$). Malgré une légère diminution observée chez les larves exposées au C18:0 en F1, le taux de survie de ces larves (96.45 ± 2.05 %) n'est pas significativement différent de celui des larves témoins (98.87 ± 0.87 %).

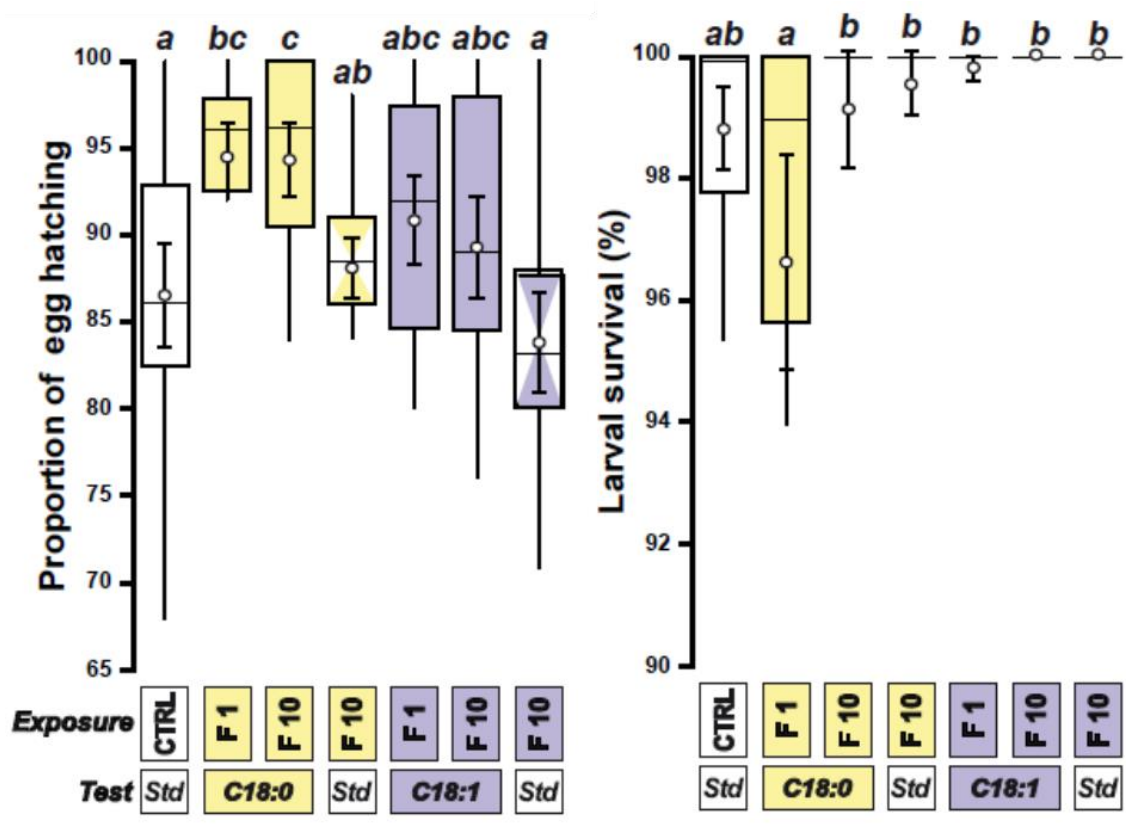


Figure 23 L'exposition au C18:0 à 5 mg/mL affecte positivement la viabilité embryonnaire mais n'influence pas significativement la survie larvaire.

Le taux d'éclosion (à gauche) et la survie larvaire (à droite) après exposition au milieu enrichi en AG pendant 24h (F1) est comparé à ceux obtenus pour des œufs issus des lignées exposées durant 10 générations, pour des œufs transférés après la 9^{ème} génération sur milieu standard (F10-Std) ou pour des œufs de la lignée contrôle (CTRL). Les pourcentages sont représentés sous forme de boxplot et de moyennes \pm SEM (cercles et barre d'erreur). Les lettres indiquent des groupes de significativité différents (test de Kruskal-Wallis). N= 14-16

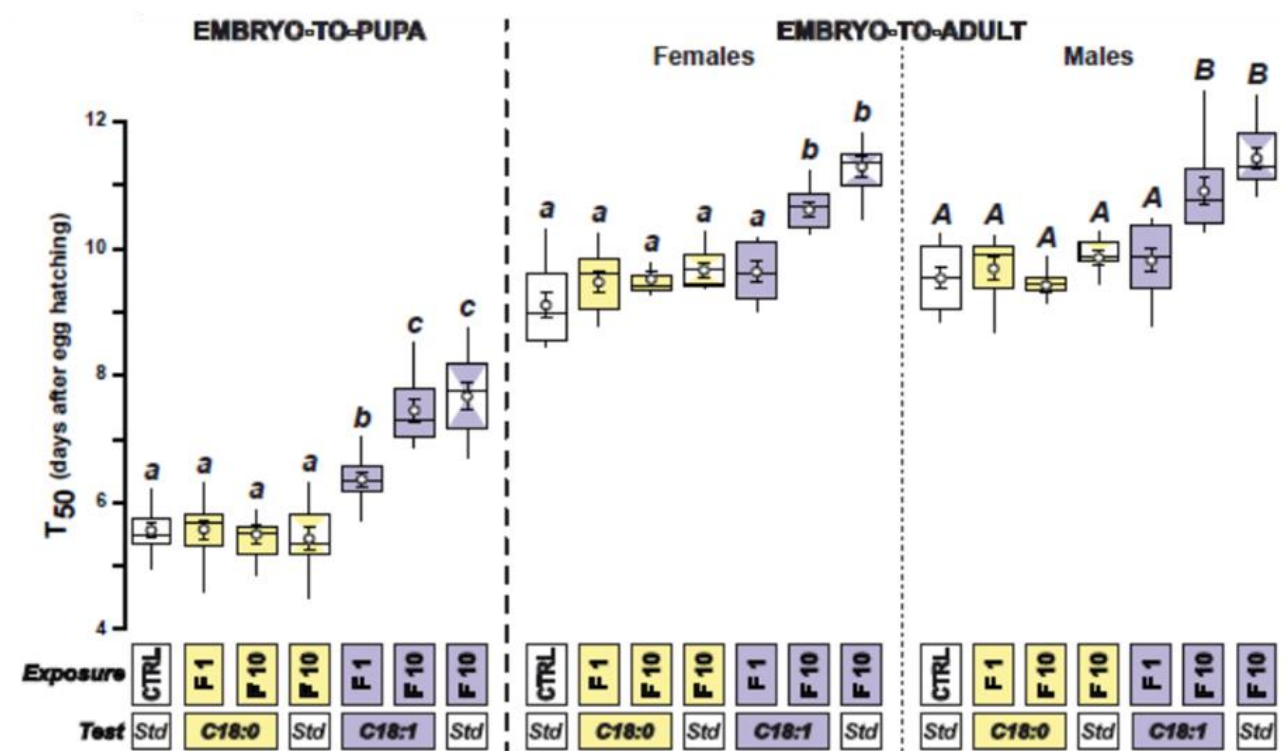


Figure 24 L'exposition permanente au C18:1 à 5 mg/mL augmente la durée du développement pré-imaginal.

Le temps de développement (TD 50 jusqu'à l'empupement de 50 % des larves, et jusqu'à l'émergence de 50 % des femelles et de 50 % des mâles) a été estimé sur des individus des lignées **LF-C18:0** et **LF-C18:1** (5 mg/mL) après 1 et 10 générations (F1 & F10), ainsi que sur des individus provenant de la 9^{ème} génération et accomplissant leur développement sur du milieu standard (F10-Std), et comparé à celui des larves contrôles (CTRL). Les TD 50 sont représentés sous forme de boxplot et de moyennes \pm SEM (cercles et barre d'erreur). Les lettres représentent les groupes de significativité (test de Kruskal-Wallis). $N=10$

b. Développement pré-imaginal et taille des larves.

L'exposition permanente au C18:1 ralentit de manière durable le développement pré-imaginal des individus des deux sexes (*Figure 24*). Le développement larvaire dure 0.8 jour de plus pour les individus de la F1, et 1.9 (2.1) jours de plus pour les individus de la F10 (F10-Std) par rapport aux contrôles (5.6 ± 0.1 j; $K_{6df} = 51.06$, $p < 0.0001$). Durant le stade pupal, ce retard est conservé pour les individus de la F10 et de la F10-Std chez les deux sexes (retard de développement pré-imaginal de 1.5 j (F10) et 2.2 j (F10-Std) — $K_{6df} = 44.27$, $p < 0.0001$ — pour les femelles et 1.5 j (F10) et de 1.9j (F10-Std) — $K_{6df} = 45.00$, $p < 0.0001$ — pour les mâles). Par contre, l'exposition permanente au

C18:0 n'affecte pas la durée du développement pré-imaginal.

La taille des larves a été mesurée après 1 ou 10 générations passées sur milieu enrichi en AG (*Figure 25*). Les larves F10 et F10-Std exposées au C18:1 sont plus grandes (respectivement, 4.28 ± 0.12 et 4.46 ± 0.12 mm pour les femelles, et 3.95 ± 0.08 et 4.06 ± 0.13 mm pour les mâles) que les larves exposées durant seulement une génération à ce même AG (F1 : 3.11 ± 0.11 mm pour les femelles et 2.97 ± 0.13 mm pour les mâles) ou que les larves contrôles (3.40 ± 0.11 mm pour les femelles et 3.07 ± 0.11 mm pour les mâles ; $K_{6df} = 58.50$ pour les femelles et 80.00 pour les mâles, $p < 0.0001$).

L'exposition au C18:0 affecte la taille des larves mâles exposées durant une seule génération ; en effet, ces dernières sont nettement plus grandes (3.83 ± 0.09 mm) que les larves mâles contrôles. Cependant, l'effet de l'exposition au C18:0 est beaucoup moins net sur la taille des larves femelles.

c. Sex-ratio

L'exposition permanente au C18:0 entraîne une augmentation progressive, mais durable, du sex-ratio adulte (F/M ; *Figure 26* droite; $K_{6df} = 22.13$, $p < 0.0001$) qui passe de 0.89 ± 0.08 pour les contrôles, à 1.07 ± 0.09 pour les F1 et à 1.35 ± 0.19 pour les F10. Un retour sur le milieu standard ne rétablit pas le sex-ratio (F10-Std, SR = 1.25 ± 0.06) et l'exposition au C18:1 n'affecte pas le sex-ratio adulte (SR variant entre 1.03 ± 0.09 et 1.09 ± 0.07). Un effet similaire est constaté pour le sex-ratio des larves des lignées exposées au C18:0 (*Figure 26* gauche ; $K_{6df} = 12.79$, $p = 0.047$). Il est également intéressant de noter qu'aucune différence de mortalité larvaire n'est observée entre les sexes ($K_{4df} = 5.35$, $p = 0.254$).

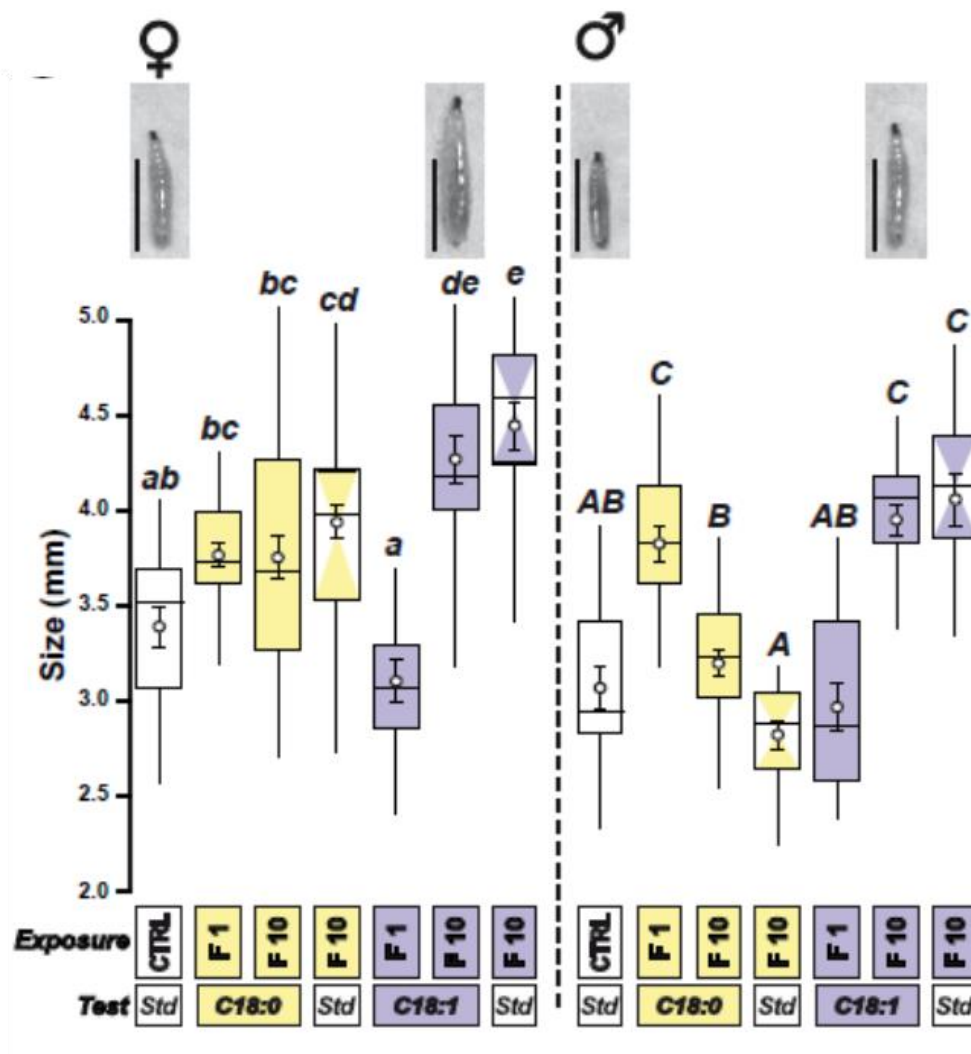


Figure 25 L'exposition au C18:0 à 5 mg/ml entraîne une augmentation transitoire de la taille des mâles, alors que l'exposition au C18:1 augmente durablement la taille des larves des deux sexes.

Longueur des larves femelles (à droite) et mâles (à gauche) des deux lignées LF-C18:0 et LF-C18:1 à 5 mg/ml (F1, F10 et F10-Std). Les photos représentent des L3 contrôles (CTRL) et F10 LF-C18:1 (le trait représente 3mm). Les tailles sont représentées sous forme de boxplot et de moyennes \pm SEM (cercles et barre d'erreur). Les lettres représentent les groupes de significativité (test de Kruskal-Wallis). N= 18-35

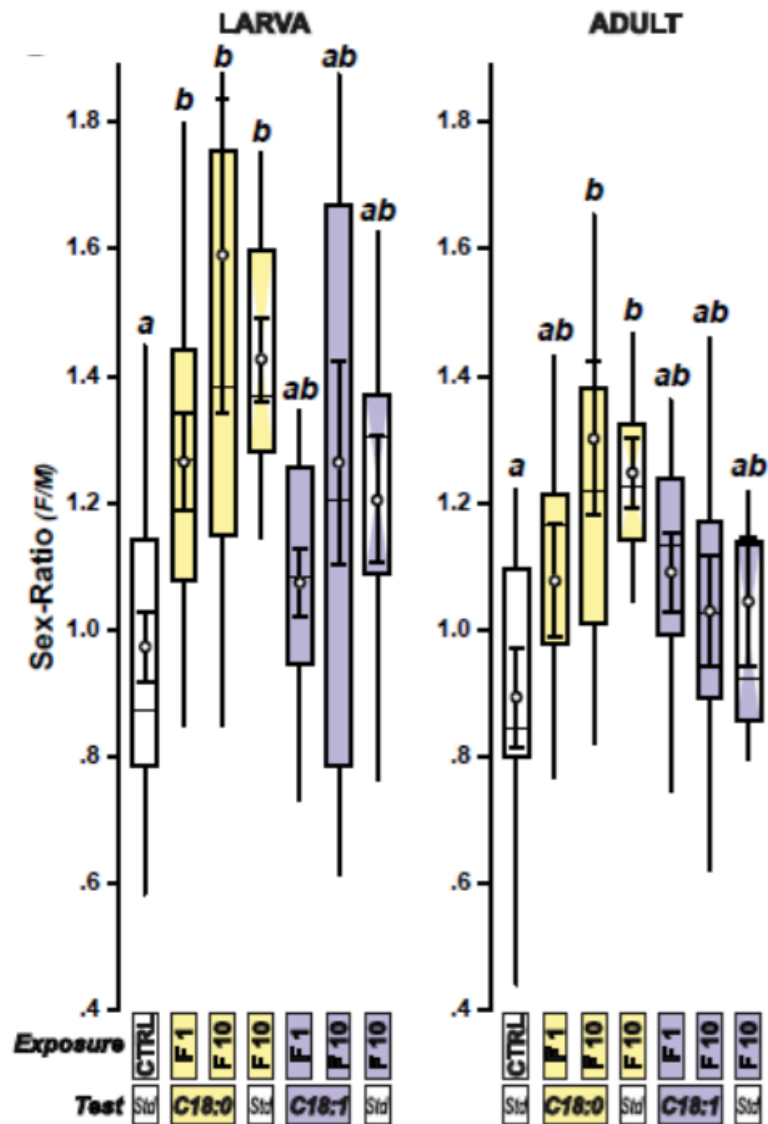


Figure 26 L'exposition au C18:0 à 5 mg/ml augmente durablement le sex-ratio (F/M) larvaire et adulte.

Le sex-ratio a été mesuré sur des larves (L3) et des adultes émergents des deux lignées LF-C18:0₍₅₎ et LF-C18:1₍₅₎ (F1, F10, F10-Std). Les sex-ratios sont représentés sous forme de boxplot et de moyennes \pm SEM (cercles et barre d'erreur). Les lettres représentent les groupes de significativité (test de Kruskal-Wallis). N= 10

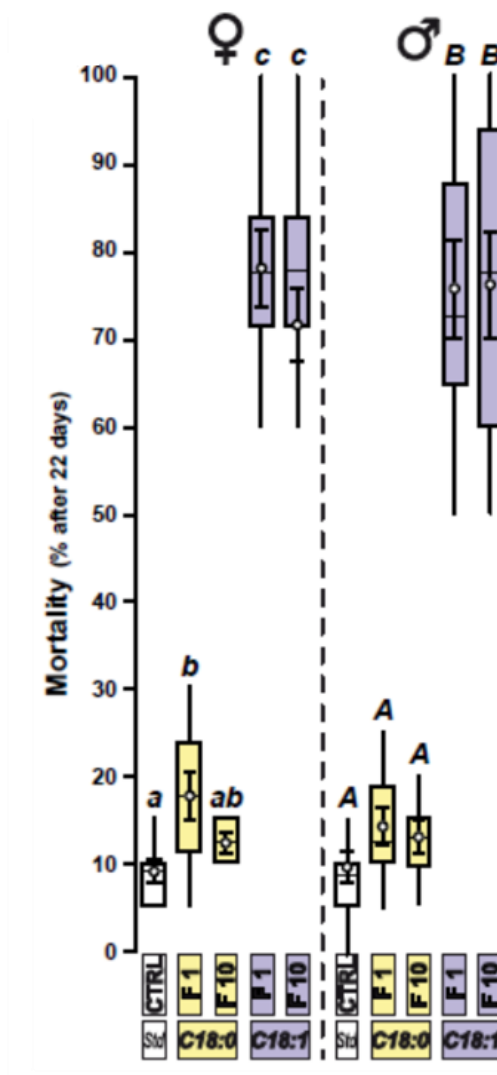


Figure 27 L'exposition au C18:0 à 5 mg/ml augmente durablement le sex-ratio (F/M) larvaire et adulte.

La mortalité cumulée des adultes (à 22 jours ; femelles en haut et mâles en bas) a été comparée entre des individus issus des lignées LF-C18:0 et LF-C18:1 (5 mg/ml) après 1 et 10 générations (F1 & F10) et issus de la lignée contrôle (CTRL). En raison d'un trop faible effectif pour le C18:1, l'effet du retour sur milieu standard (F10-Std) n'a pu être évalué. Les taux de mortalité sont représentés sous forme de boxplot et de moyennes \pm SEM (cercles et barre d'erreur). Les lettres représentent les groupes de significativité (test de Kruskal-Wallis). $N=10$

e. Survie des adultes

Contrairement à l'exposition permanente des mâles et des femelles au C18:0 pendant 22 jours, on observe 8 fois plus de mortalité après une exposition continue au C18:1, que ce soit après 1 ou 10 générations (respectivement, 78.0 ± 4.4 et 71.5 ± 4.2 % pour les femelles — $K_{4df} = 32.3$, $p < 0.0001$ — et 75.5 ± 5.6 et 76.0 ± 6.2 % pour les mâles — $K_{4df} = 35.7$, $p < 0.0001$; *Figure 27*).

La mortalité des individus issus de la lignée C18:1, remis sur du milieu standard après la 9^{ème} génération, n'est pas différente de celle des individus de la lignée contrôle. Nous avons pu également remarquer que l'exposition au C18:0 durant une génération augmente légèrement la mortalité des femelles (17.5 ± 2.6 %), mais que cet effet n'est plus significatif après 10 générations d'exposition.

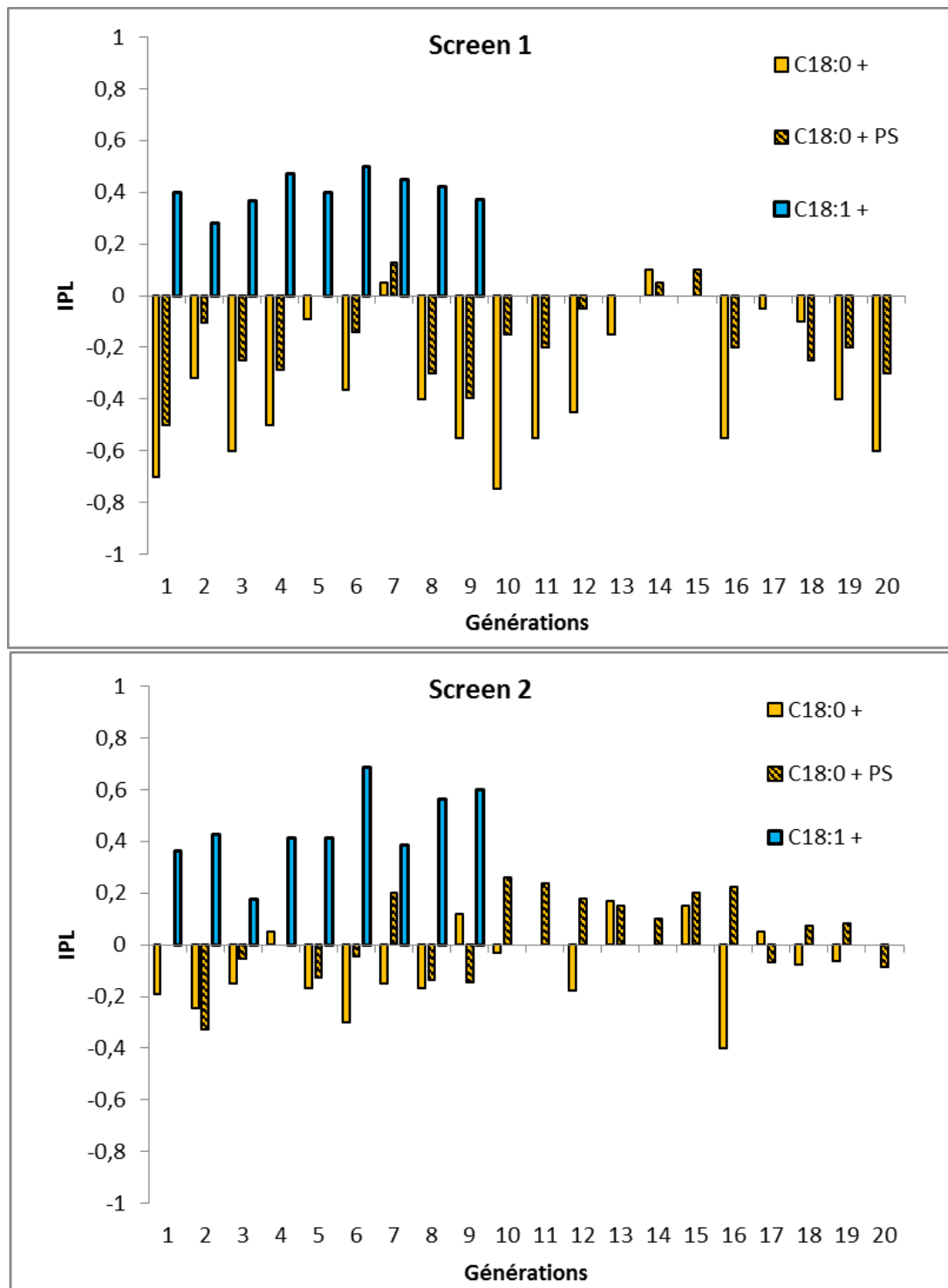


Figure 28 Evolution des préférences larvaires de lignées sélectionnées pour leur attirance envers le C18:0 ou le C18:1.

Le protocole de double sélection est appliqué jusqu'à la 9^{ème} génération pour le C18:1, et la 20^{ème} pour le C18:0. Les préférences larvaires (IPLs) envers l'AG correspondant sont mesurées lors du *Screen 1* (en haut) et du *Screen 2* (en bas) chez la lignée sélectionnée pour son attirance pour le C18:1 (L-C18:1+) et chez des lignées sélectionnée pour le C18:0 (jaune) (L-C18:0+ ou C18:0 PS, respectivement motif plain et hachuré). Les IPLs sont représentés sous forme de médiane. L'IPL médian de la population originelle (F0) vaut -0.8 pour le C18:0 et 0.25 pour le C18:1 ($N = 20-30$ pour le *Screen 1* et 10-15 pour le *Screen 2*)

3. Sélection "larvaire"

Le premier *screen* de la sélection larvaire montre que l'attraction des larves de la lignée L-C18:1 + pour le C18:1 reste assez constante durant 9 générations (*Figure 28* en haut, $r^2 < 0.09$; pente < 0.19 ; $p=0.45$) et que ce comportement restait stable lors du second *screen* ($r^2 < 0.6$; $-0.1 < \text{pente} < 0.2$; $p = 0.26$), ce qui a motivé la décision d'arrêter la sélection après 9 générations. Par contre, si lors du premier *screen*, les larves de la lignée L-C18:0 + sont globalement repoussées par le C18:0, celles qui étaient récoltées sur le C18:0 s'avèrent plutôt indifférentes à ce composé lors du second *screen* (*Figure 32* bas, $r^2 = 0.38$; pente = 0.175 ; $p = 0.003$). De la même façon, la lignée présélectionnée (C18:0 PS) montre une évolution un peu plus nette, mais non significative, lors du *screen 2* ($r^2 = 0.16$; pente = 0.134 ; $p = 0.08$). Les droites de régression du *screen 2* sont représentées en annexe (*Figure 36*).

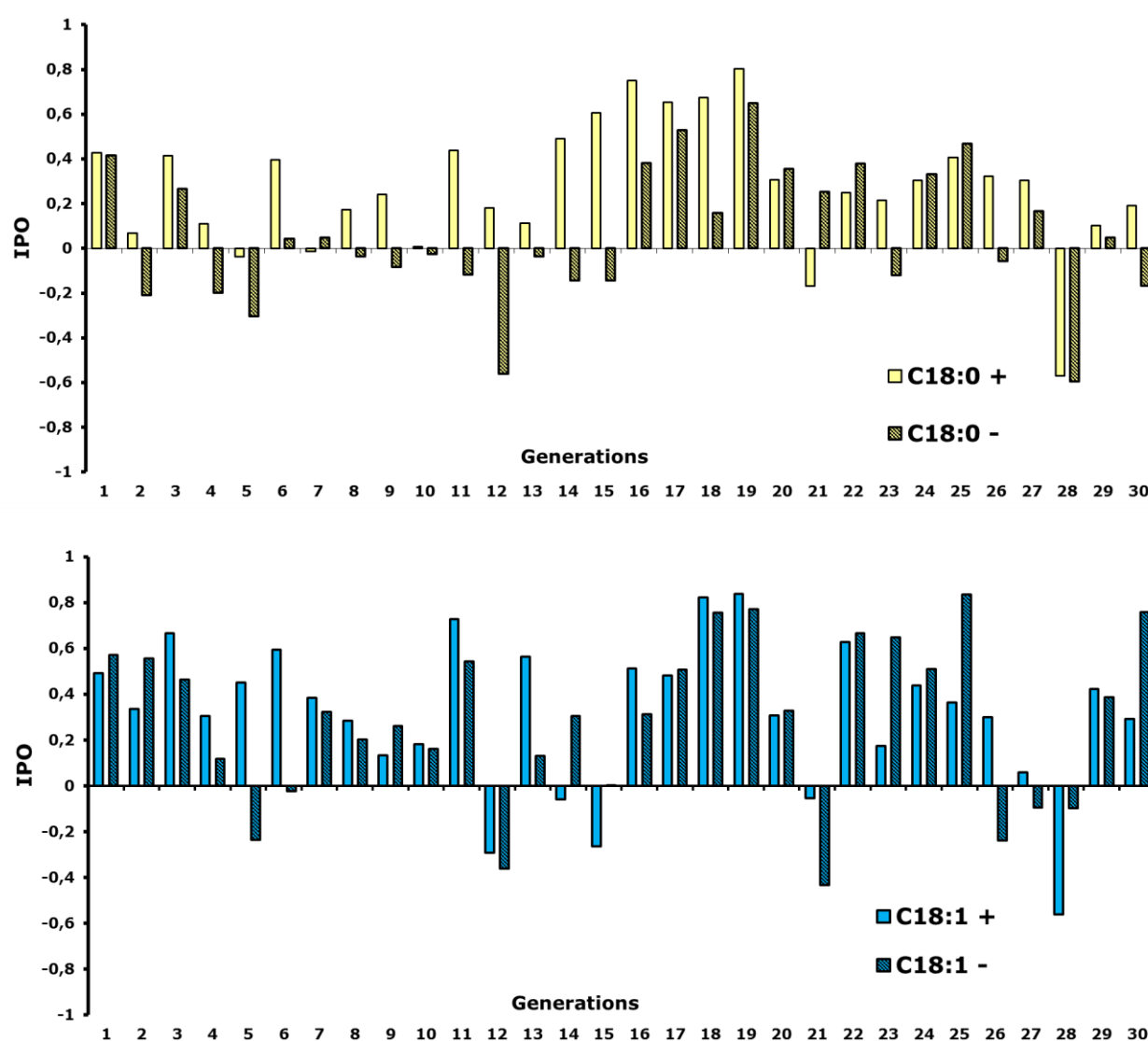


Figure 29 Evolution de la préférence d'oviposition pour les AGs chez les lignées sélectionnées sur base de leur comportement ovipositeur.

Les préférences d'oviposition (IPOs) envers le C18:0 (en haut) ou le C18:1 (en bas) ont été mesurés à chaque génération des lignées sélectionnées positivement (Ad-C18:0+ et Ad-C18:1+) ou négativement (Ad-C18:0- et Ad-C18:1-) pour leur réponse adulte à cet AG. Les IPOs médians sont représentés sur trente générations. Les lettres représentent les groupes de significativité (Test de Kruskal-Wallis). N=10-15

4. Sélection "adulte"

Evolution des préférences d'oviposition

Les préférences d'oviposition des lignées Ad-C18:0+ et Ad-C18:0– (face au C18:0) et des lignées Ad-C18:1+ et Ad-C18:1– (face au C18:1) varient fortement tout au long du processus de sélection (*Figure 29*). Ces variations ne permettent pas de mettre en évidence une tendance générale sur 30 générations (*Figure 35 en Annexe* ; C18:0 : $r^2 < 0.2$, $-0.01 < \text{pente} < 0.02$; $p > 0.34$; C18:1 : $r^2 < 0.3$; $0.01 < \text{pente} < 0.1$; $p > 0.3$). Pour une concentration de 0.5 mg/ml, le processus de sélection n'a donc pas permis de créer des lignées hyper-attirées ou hyper-repoussées stables. Malgré cela, nous avons mesuré différents paramètres tels que les préférences larvaires, la fécondité des femelles et la mortalité des adultes afin d'établir un bilan de la sélection sur le comportement de ponte.

Evolution des préférences larvaires

A la 30^{ème} génération de sélection, les larves des lignées Ad-C18:0+ et Ad-C18:0– sont repoussées de façon comparable par le C18:0 (IPLs variant entre -0.79 ± 0.04 et -0.78 ± 0.03) que les larves contrôles (IPL= -0.80 ± 0.03) ; celles des lignées Ad-C18:1+ et Ad-C18:1– sont autant attirées par le C18:1 (IPLs variant entre 0.14 ± 0.03 et 0.26 ± 0.03) que les contrôles (IPL= 0.218 ± 0.03) ($K_{5df}=69.40$; $p < 0.0001$; *FIGURE 30*).

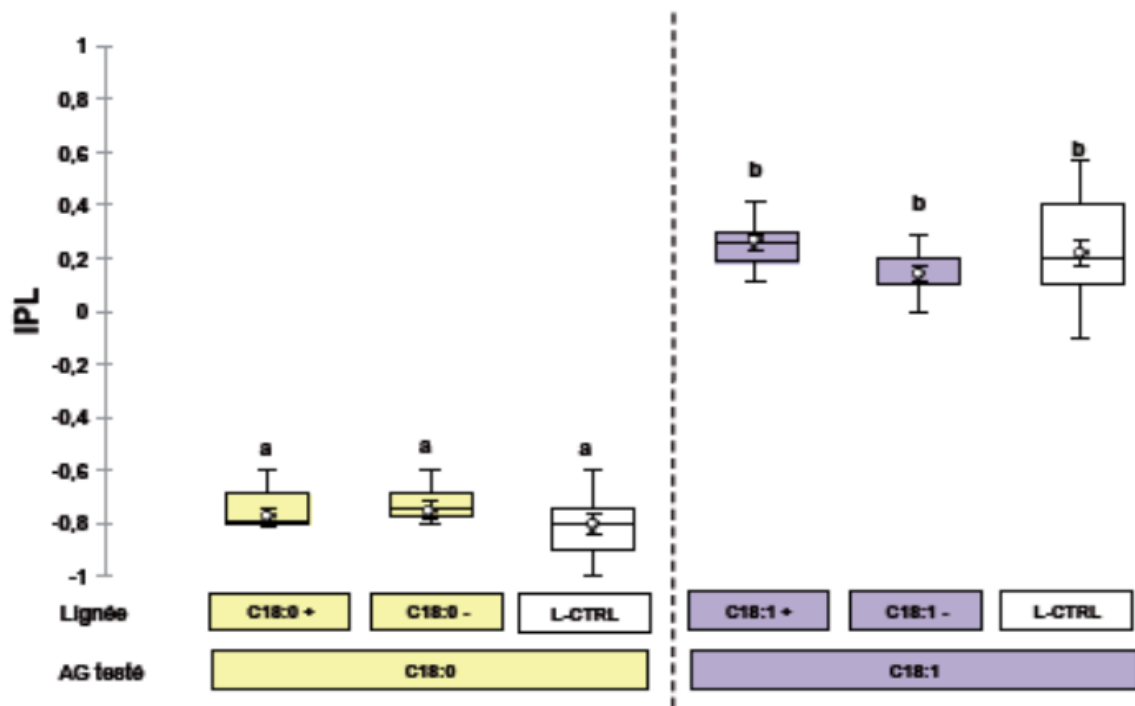
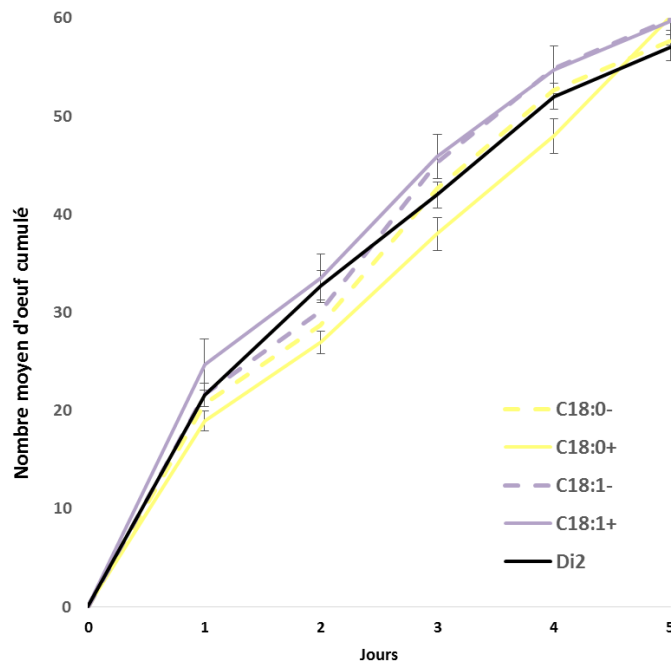


Figure 30 La sélection sur base du comportement d'oviposition n'a pas d'influence sur les préférences larvaires de la F30.

Les préférences larvaires pour le C18:0 (à gauche) ou pour le C18:1 (à droite) sont mesurées sur des larves de la 30^{ème} génération des lignées sélectionnées positivement (Ad-C18:0+ et Ad-C18:1+) ou négativement (Ad-C18:0- et Ad-C18:1-) pour leur préférence d'oviposition envers cet AG. Les IPLs sont représentés sous forme de boxplot et de moyennes \pm SEM (cercles et barre d'erreur). Les lettres représentent les groupes de significativité (Test de Kruskal-Wallis). N=15



Les œufs pondus pendant 5 jours sont dénombrés sur les 4 lignées issues de la sélection sur base du comportement ovipositeur (Ad-C18:0+, Ad-C18:0-, Ad-C18:1+ et Ad-C18:1-). Les nombres d'œufs cumulés par femelle (moyenne \pm SEM) sont représentés en fonction de l'âge des femelles. $N=18-20$

Figure 31 La sélection sur base du comportement d'oviposition n'a pas d'influence sur la fécondité.

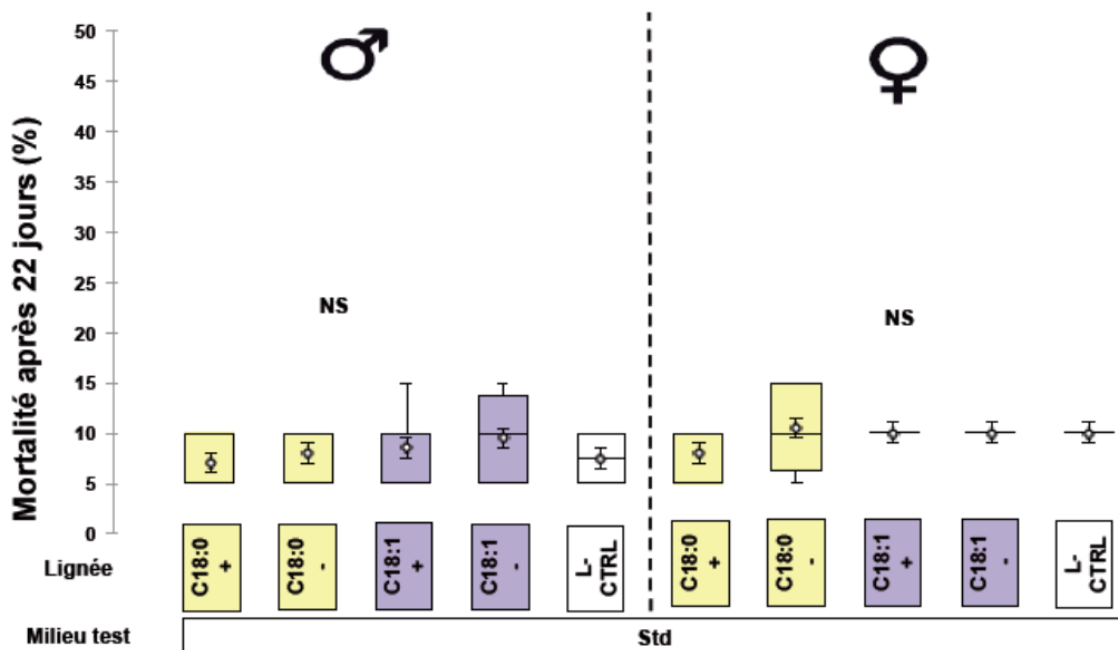


Figure 32 La sélection sur base du comportement d'oviposition n'a pas d'influence sur la survie des adultes après 30 générations.

La mortalité des adultes mâles (à gauche) et femelles (à droite) est mesurée pendant 22 jours sur les 4 lignées issues de la sélection du comportement ovipositeur (Ad-C18:0+, Ad-C18:0-, Ad-C18:1+ et Ad-C18:1-). Les pourcentages de mortalités sont représentés sous forme de boxplot et de moyennes \pm SEM (cercles et barre d'erreur). $N=18-20$

Impact sur la fitness

Le processus de sélection n'a montré aucune différence entre la fécondité à 5 jours des lignées Ad-C18:0 +, Ad-C18:0 –, Ad-C18:1 + et Ad-C18:1 – par rapport à celle de la lignée contrôle (nombre d'œufs cumulé variant entre 57.86 ± 1.71 et 60.12 ± 1.32 ; $K_{4df} = 53.12$; $p = 0.43$ *FIGURE 31*). De même, la viabilité embryonnaire (de $93 \pm 0.88\%$ à $95 \pm 0.63\%$; $K_{4df} = 4.79$; $p = 0.31$) et la mortalité des adultes à 22 jours (de 7.56 ± 1.71 à $9.12 \pm 2.32\%$ — $K_{5df} = 2.58$, $p = 0.630$ — pour les femelles et de 8.75 ± 1.61 à $11.12 \pm 2.32\%$ — $K_{5df} = 3.10$, $p = 0.530$ — pour les mâles) ne sont pas affectées par la sélection (*FIGURE 32*).

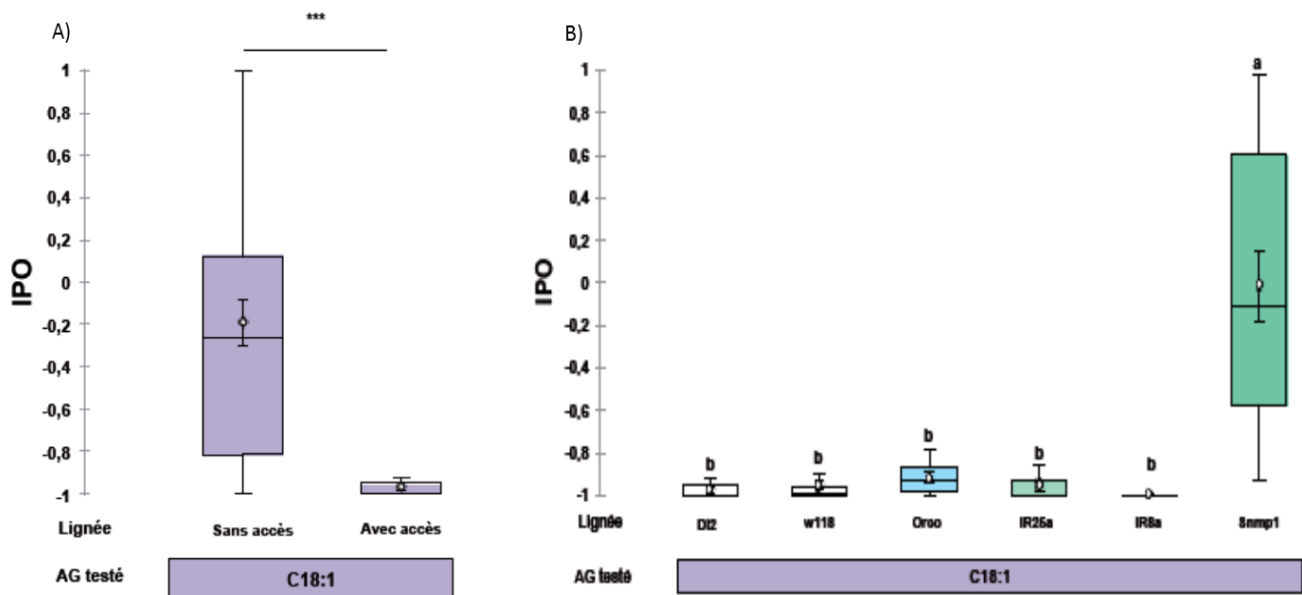


Figure 33 L'olfaction ne joue pas de rôle déterminant dans l'oviposition.

Volet de gauche : les préférences d'oviposition (IPOs) pour le C18:1 ont été mesurées individuellement sur des femelles naïves ayant ou n'ayant pas la possibilité de toucher le milieu enrichi (respectivement avec accès et sans accès) (à gauche). *** : $p < 0.001$ (Test de Mann-Whitney). $N = 15-20$

Volet de droite : les préférences d'oviposition (IPOs) pour le C18:1 ont été mesurées sur des groupes de femelles de 5 lignées mutantes pour l'olfaction (ORCO, IR25a, IR8a et Snmp1) et comparées à celles des lignées contrôle Di2 ou w118. Les lettres représentent les groupes de significativité (Test de Kruskal-Wallis). $N = 10-20$

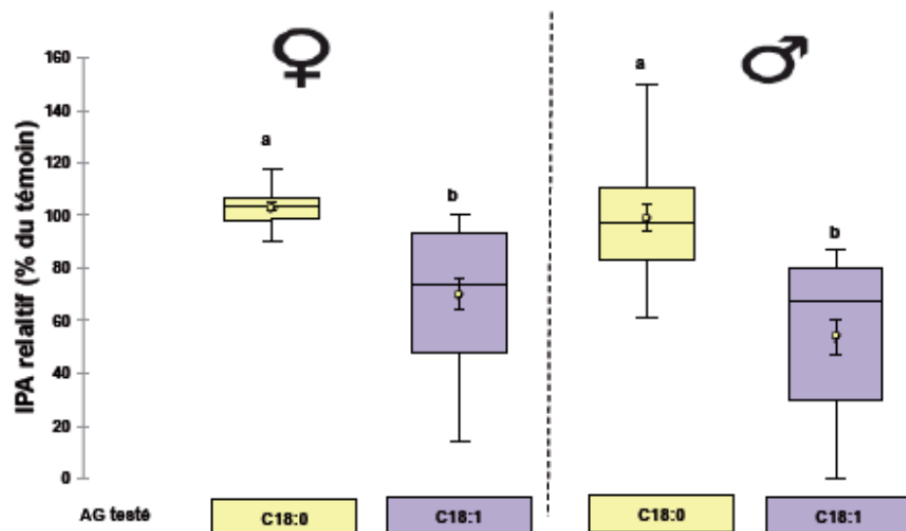


Figure 34 Le milieu enrichi en C18:1 est moins consommé par les mâles et les femelles que le milieu standard.

Les préférences alimentaires des femelles et des mâles naïfs pour les milieux enrichis en C18:0 ou en C18:1 ont été évaluées en utilisant le test bleu / rouge de Tanimura (1982). Les résultats sont exprimés en termes de préférence relative par rapport à celle des mouches de même sexes face à du milieu standard coloré dans les mêmes conditions. Les lettres représentent les groupes de significativité (Test de Kruskal-Wallis). $N = 20$

5. Importance de l'olfaction dans le choix du site d'oviposition

Alors que les femelles naïves sont nettement repoussées par un milieu enrichi en C18:1 lorsqu'elles peuvent entrer en contact avec ce milieu (IPO = -0.92 ± 0.06), elles ne présentent plus de comportement aversif lorsqu'elles ne peuvent pas toucher ce milieu (IPO = -0.19 ± 0.18 , Mann-Whitney test : $U=293.5$, $p = 0.0001$; *Figure 33 A*).

Le comportement des femelles de lignées mutantes pour des (co-)récepteurs impliqués dans l'olfaction de l'adulte, a été testé dans le dispositif de test d'oviposition classique (avec possibilité de contact avec le milieu enrichi) et comparé à celui de femelles Di2 et w118 (*Figure 33 B*). Si les femelles mutantes pour la protéine Snmp (homologue de CD36) perdent leur aversion pour le C18:1 (IPO = 0.05 ± 0.19 ; $KW_{5df} = 44.52$, $p < 0.0001$), les autres femelles mutantes restent autant repoussées que les femelles des deux contrôles (IPO variant entre -1 ± 0.00 et -0.96 ± 0.05).

6. Préférences alimentaires des adultes

Afin d'évaluer les préférences alimentaires des adultes face aux AGs, nous avons utilisé le Test bleu / rouge en colorant alternativement le milieu enrichi en C18:0 ou C18:1 (à 5 mg/ml). Nos résultats mettent en évidence que, si les mâles et les femelles naïfs consomment autant de milieu enrichi en C18:0 (mâle : $98 \pm 5.11\%$ femelle : $103 \pm 1.44\%$) que de milieu standard, les individus des deux sexes consomment environ 25-30 % moins de milieu enrichi en C18:1 (*Figure 34*, mâle : $53.48 \pm 6.86\%$, femelle : 69.97 ± 65.63 , $KW_{3df} = 42.56$, $p < 0.0001$). Cependant, il faut noter que la coloration du milieu affecte clairement la consommation des adultes (préférence marquée des mâles pour le bleu) provoquant ainsi un effet d'interaction important qui relativise ces observations.

Discussion

Chez les animaux, les acides gras (AGs) sont impliqués dans de nombreuses fonctions allant du stockage de l'énergie à la composition des membranes et sont essentiels à la survie de l'organisme. Cependant, la surexposition de plus en plus fréquente à une alimentation riche en graisses augmente le risque de développer une obésité et des pathologies cardiovasculaires. Si les effets d'une alimentation enrichie en AGs sur l'appétence pour le gras sont connus chez les mammifères (Montmayeur et al. 2010), les effets des AGs sur les préférences alimentaires et/ou sur les traits de vie n'avaient jamais été étudiés chez *D. melanogaster*.

Ma thèse avait plusieurs objectifs : **(1)** étudier la plasticité des préférences envers les AGs chez les larves et les adultes de Drosophile, **(2)** sélectionner des individus (larves, adultes) pour leurs préférences, afin de créer des lignées hyper-attirées (ou hyper-repoussées) par les AGs, lignées qui auraient pu être utilisées pour étudier de possibles gènes impliqués dans la perception des AGs, et enfin, **(3)** envisager les modalités sensorielles impliquées dans les réponses comportementales de la Drosophile envers les AGs.

Préférence envers les AGs : de la larve à l'adulte

Il a été récemment montré que les larves de *D. melanogaster* sont attirées par les AGs insaturés à longue chaîne et repoussées par les AGs saturés à longue chaîne ; les adultes préfèrent plutôt les AGs saturés et les femelles évitent de pondre sur un milieu enrichi en AGs insaturés (C18:1 ou C18:3) (Fougeron et al. 2011). Les préférences pour les AGs s'inversent donc entre la larve et l'adulte, et ce changement de préférence pourrait refléter des besoins métaboliques différents durant les vies larvaire et imaginale. En effet, la proportion de C18:1 dans les AGs totaux augmente avec l'âge de la larve avant de diminuer chez la pupa (Green et al. 1979). Par ailleurs, les larves homozygotes pour *SREBP*, un facteur de régulation de la biosynthèse des AGs chez la drosophile, meurent avant le deuxième stade larvaire (L2) si leur alimentation n'est pas supplémentée en AGs, et notamment en C18:1 (80% de survie après supplémentation), ce qui montre l'importance de cet AG lors du développement larvaire (Kunte et al. 2006).

Il est plus difficile d'interpréter d'un point de vue métabolique le fait que les femelles naïves évitent de pondre sur un milieu riche en C18:1. Chez la tordeuse de la vigne (*Lobesia botrana*,

Lépidoptère), le C18:1 est une phéromone épidéictique présente en grande quantité sur les œufs et empêchant d'autres femelles de pondre sur le même site (Gabel et al. 1996). Chez les drosophiles, une forte dose de C18:1 pourrait aussi être un indicateur de surpopulation qui inciterait les femelles à pondre ailleurs, ce qui pourrait expliquer que les femelles de *D. melanogaster* et de *D. simulans* éviteraient de pondre sur un milieu déjà colonisé par des larves (Chess et al. 1985). D'autre part, le C18:1 est un signal dégagé par les cadavres d'insectes qui permet à la fourmi *Pogonomyrmex badius* de localiser cette ressource alimentaire (Gordon 1983) ; cet AG à forte concentration pourrait donc indiquer aux Drosophiles femelles la présence de cadavres sur ce substrat et les inciter à ne pas y pondre.

Même si l'aversion pour le milieu enrichi en C18:1 semble moins prononcée, les préférences alimentaires des femelles adultes correspondent à leurs préférences d'oviposition et il est possible que le choix du site de ponte soit influencé par le comportement alimentaire des adultes. Cependant, des différences contextuelles entre les préférences alimentaires et d'oviposition face à des milieux contenant du sucrose ou de l'acide acétique ont été mises en évidence (Yang et al. 2008, Joseph et al. 2009) ce qui suggère que, si les comportements alimentaires et d'oviposition peuvent s'influencer, ce sont bien des comportements distincts reposant sur des mécanismes sensoriels différents.

Si, dans nos conditions les réponses aux AGs des larves ou des adultes naïfs sont stables, leur exposition (temporaire ou permanente) à ces composés pourrait induire une plasticité de leur réponse, leur permettant de s'adapter à un nouveau substrat à court (adaptation intra-générationnelle) ou long terme (adaptation inter-générationnelle).

L'olfaction n'est pas impliquée dans la perception des AGs par les Drosophiles adultes

Chez les mammifères, l'olfaction influence l'attraction pour les AGs (Mattes 2009). Si, chez certains diptères, l'olfaction est impliquée dans la réponse aux AGs à courte chaîne (Muscidae, Moustiques ; (Hwang et al. 1984, Mullens et al. 2009), son implication dans la perception des AGs à longue chaîne, comme les C18:0 ou C18:1, reste encore à démontrer. Des adultes de *D. melanogaster*, testés individuellement dans un labyrinthe en Y, ne sont ni repoussés ni attirés par le C18:0, le C18:1 ou le C18:3 (Julien Thibert, données non publiées). D'autre part, le comportement d'oviposition des femelles naïves n'est pas affecté par la seule

odeur du C18:1, et la réponse de femelles mutantes pour le corécepteur olfactif ORCO, ou les récepteurs olfactifs IR25a et IR8a, n'est pas différente de celles de femelles sauvages. Ces résultats suggèrent que l'olfaction ne joue pas un rôle déterminant dans la réponse des adultes aux AGs à longues chaînes. Une étude récente (Masek et al. 2013) a montré que les antennes et les palpes maxillaires, où sont exclusivement situés les ORNs, ne sont pas requis dans la réponse à de faibles concentrations de certains AGs comme, par exemple, le C6:0 (acide hexanoïque), le C8:0 (acide octanoïque) ou le C18:2, et que la réponse gustative (PER) est abolie chez les mutant *Poxn*, chez lesquels les sensilles chimiosensorielles sont transformées en sensilles mécanosensorielles. La gustation serait donc la principale modalité sensorielle utilisée par les adultes de drosophiles pour détecter les AGs. En revanche, chez les larves de drosophiles, la modalité olfactive participerait à la perception de ces composés (Fougeron, 2011).

Les femelles de la lignée *Snmp*² (lignée mutante homozygote de *Snmp* 1 — (Vogt et al. 2009) — créée par Richard Benton) ne sont pas repoussées par le C18:1, ce qui suggère une implication importante de cette protéine dans la détection de cet AG. *Snmp* 1 est un homologue de CD36, transporteur d'AGs à longue chaîne impliqué dans la perception des AGs chez la souris (Laugerette et al. 2005) et chez l'Homme (Keller et al. 2012). Chez la drosophile, CD36 est exprimé dans les antennes et les palpes maxillaires et serait impliqué dans la perception du cis-vaccényle acétate (cVa) (Benton et al. 2007). Au cours de ce travail, je n'ai pas pu vérifier le profil d'expression de cette protéine dans les organes gustatifs de l'adulte mais elle est clairement exprimée au niveau de certains entérocytes larvaires et adultes et dans une structure céphalique interne (organe pharyngal?) (Annexe Figure 37). Chez la drosophile, les deux formes, *Snmp* 1 et *Snmp* 2 (Vogt et al. 2009) sont présentes : *Snmp* 1 est exprimé dans le système olfactif alors que *Snmp* 2 est exprimé dans le système gustatif (proboscis, pattes et, probablement, organe ovipositeur, R.A Fondino communication personnelle). Il serait donc intéressant de tester ces deux variantes de *Snmp* chez les adultes et les larves afin de vérifier si *SNMP* joue un rôle similaire à celui de CD36 dans la détection des AGs. Dans l'affirmative, la drosophile constituerait un outil de choix pour étudier les mécanismes moléculaires de la détection des AGs. Un argument en faveur de cette hypothèse est l'implication de la voie de la PLC (phospholipase C) dans la détection des AGs chez la drosophile car cette voie de signalisation est aussi celle de CD36 dans les cellules gustatives des mammifères (Masek et al. 2013).

Sélection sur base des préférences envers les AGs

Les expériences de sélection artificielle chez la drosophile sont de plus en plus étudiées depuis deux décennies (Garland et al. 2009). Si elles permettent une approche expérimentale des mécanismes évolutifs, elles produisent souvent des résultats variables et sont sujettes à de nombreuses contraintes pour être reproductibles et fiables (Harshman et al. 2000). Dans les expériences de sélection sur les préférences aux AGs, j'ai utilisé un grand nombre d'individus pour limiter les effets d'une potentielle consanguinité (sélection d'une mutation aléatoire délétère par exemple), mais l'idéal aurait été de réaliser ces sélections en parallèle, dans un autre laboratoire, en utilisant des conditions identiques, afin d'obtenir de vrais répliquas de sélection sur des populations sélectionnées indépendamment (Hoffman et al. 1987).

Sélection "adulte" (sur base du comportement ovipositeur) : instabilité des préférences

Le comportement ovipositeur est un bon critère pour effectuer une sélection artificielle pour deux raisons principales. D'une part, le test est simple (choix binaire d'un site de ponte) et fournit une descendance importante et, d'autre part, en conditions naturelles, le comportement ovipositeur est déterminant pour la fitness de la progéniture. Des variations génétiques sous-jacentes à ce comportement ont été décrites chez de nombreux insectes (Fox 1993). Contrairement à d'autres études de sélection sur la base du comportement ovipositeur (Abed-veillard et al. 2013, in press), nous n'avons pas observé d'évolution significative vers une préférence (lignée Ad-AG+) ou une aversion (lignée Ad-AG-) ni pour le C18:0, ni pour le C18:1.

Dans les populations naturelles de *Papilio zelicaon* (Lepidoptera), il n'y a pas de différence au niveau des préférences d'oviposition entre populations allopatriques (Wehling et al. 1997). Plusieurs hypothèses ont été émises afin d'expliquer ce phénomène : les flux de gènes entre populations, la faiblesse de la sélection naturelle, ou encore, les contraintes génétiques sous-jacente du comportement d'oviposition. Lors de nos expériences, les différentes lignées étant sélectionnées indépendamment, on peut exclure l'impact de flux de gènes entre les lignées qui contrebalanceraient les effets de la sélection. De plus, à chaque génération, j'ai récolté les œufs préférentiellement pondus sur le pondoir enrichi en AG dans les dispositifs dans lesquels la préférence des femelles était la plus forte (pour la lignée AG+), ce qui augmente la contribution des femelles dont la préférence d'oviposition va dans le sens de la sélection. La sélection appliquée

dans notre protocole est donc forte. Par ailleurs, le nombre de femelles testées à chaque génération (entre 50 et 75) et le nombre d'œufs récoltés (500 à chaque génération) rend peu probable un possible impact d'une dérive génétique qui contrebalancerait les effets de la sélection (Harshman et al. 2000). Enfin, les lignées Ad-AG- ne divergent pas des lignées sélectionnées positivement (Ad-AG+) et les deux types de lignées covarient à chaque génération. Ceci pourrait suggérer l'existence de fortes contraintes génétiques. Ainsi, le comportement d'oviposition chez les drosophiles pourrait être déterminé par un ensemble complexe de gènes coadaptés qui limiterait la divergence des préférences face à la sélection (covariation des préférences) mais qui n'excluraient pas une variation des préférences entre chaque génération par rapport à la lignée contrôle.

Il est important de noter, qu'après le test de choix, les œufs récoltés sont placés sur du milieu standard sur lequel s'effectuent la totalité du développement pré-imaginal et les premiers jours de vie adulte. Ceci diffère complètement des conditions naturelles dans lesquelles les larves se développent sur le site de ponte qui ne sera quitté qu'avant la pupaison si les conditions hydrométriques l'imposent (Reaume et al. 2006). Cette contrainte, imposée par la femelle à sa progéniture, explique l'intérêt de l'étude des effets d'une exposition forcée sur les préférences et sur les traits de vie des individus.

Sélection "larvaire" : baisse de l'aversion envers le C18 :0

La sélection des larves en fonction de leur préférence envers un AG est une procédure plus complexe et plus longue que la sélection en fonction du comportement ovipositeur, et elle n'a permis de sélectionner qu'un nombre limité de larves à chaque génération (environ 75). Il s'agit, à ma connaissance, de la seule expérience de sélection de la préférence des larves vis-à-vis d'un substrat.

Aucune évolution significative de la préférence larvaire envers le C18:1 n'a été observée pendant 9 générations. Ceci pourrait être dû au choix de la concentration utilisée (10 mg/ml soit 150 µg/cm² sur la zone AG) qui pourrait être supérieure à la dose pour laquelle la réponse envers le C18:1 serait déjà maximale. D'autre part, il pourrait y avoir un biais expérimental lié au dispositif utilisé pour la sélection larvaire face à un stimulus "*positif*". En effet, si les larves récoltées sur le C18:0 (nocif et répulsif) sont vraisemblablement plus tolérantes à ce composé que les autres, les larves récoltées sur le C18:1 (inoffensif et attractif) peuvent, soit être attirées par ce composé ou simplement explorer la zone sans être repoussé par cet AG. Ceci expliquerait que j'ai pu récolter

plus de faux-positifs dans le cas de la sélection larvaire face au C18:1, comme pourraient en témoigner les résultats du *screen* 2 de la 3^{ème} génération, au cours duquel les larves sont moins attirées par le C18:1 que lors du *screen* 1.

En revanche, ma procédure de sélection a entraîné une réduction significative de l'aversion envers le C18:0 au cours des générations et ce, malgré l'existence d'oscillations. Les préférences de la lignée présélectionnée, pendant 46 générations, pour sa tolérance au C18:0 par A-S Fougeron (Lignée C18:0 + PS) diffèrent peu de celles de la lignée C18:0+ après quelques générations, mais sa tolérance envers le C18:0 est plus stable au cours des générations. Le dispositif utilisé est donc efficace pour sélectionner des larves tolérant le C18:0 mais un nombre plus élevé de générations semble nécessaire pour que la tolérance vis-à-vis de ce composé aversif soit stable.

De façon générale, nos résultats suggèrent que les préférences larvaires envers les AGs constituent un meilleur critère de sélection que le comportement d'oviposition, mais ceci pourrait être dû aux concentrations utilisées (0.5 mg/ml de milieu pour la sélection d'oviposition contre 10 mg/ml d'une solution d'AG dans l'éthanol pour les tests larvaires). Malheureusement, en raison de l'aversion stricte des femelles pour le C18:1, l'utilisation d'une concentration plus forte (5mg/ml) pour la sélection adulte aurait limité le nombre d'œufs sélectionnés lors des premières générations et créé un goulot d'étranglement qui aurait augmenté la probabilité de sélectionner des individus présentant, par exemple, des problèmes de détection des AGs. D'un autre côté, les larves ne sont plus repoussées par le C18:0 à une concentration de 0.5 mg/ml (Fougeron et al. 2011), ce qui limite l'intérêt de cette concentration pour la sélection larvaire.

Effets intragénérationnels de l'exposition aux AGs sur les préférences

D. melanogaster est connue pour ses capacités d'apprentissage dans des contextes variables (Dubnau et al. 1998). Les larves, comme les adultes, sont capables de diverses formes d'apprentissage, passant d'une simple habituation aux apprentissages associatifs divers (Gerber et al. 2007, Gerber et al. 2009). L'impact de l'alimentation sur les apprentissages, chez les larves ou les adultes, est de plus en plus étudié (Dethier 1980, Russell et al. 2011, Zhang et al. 2013) et l'hypothèse selon laquelle ces derniers ne reposeraient exclusivement sur la valeur hédonique des sensations pré-ingestives commence à être remise en question chez l'insecte (Wright 2011). Par

ailleurs, l'impact des apprentissages larvaires sur les comportements adultes, et notamment l'oviposition, sont sujet à controverse depuis 3 décennies (Barron 2001). Le principe d'Hopkins sur la sélection de la plante hôte repose sur le fait que le choix du site de ponte des femelles adultes serait influencé par le substrat sur lequel les femelles se seraient développées pendant leur période larvaire (Jaenike 1983). Ce principe est actuellement remis en cause (Barron 2001) et de nombreuses études montrent que l'environnement adulte, plutôt que celui de la larve, influence le choix du site de ponte, soulignant la nécessité d'être vigilant lorsque l'on teste l'influence de l'expérience larvaire sur les adultes (Janz et al. 2009).

Plasticité du comportement larvaire

Ces les larves de drosophiles, une exposition de 72 h à l'un des deux AGs testés influence spécifiquement la réponse des larves face à cet AG : l'exposition à un milieu riche en C18:0 réduit l'aversion des larves pour ce composé et l'exposition à un milieu riche en C18:1 augmente leur attirance pour cet AG. Deux mécanismes différents pourraient expliquer ces résultats. La réduction de l'aversion au C18:0 (normalement aversif et nocif pour les larves) pourrait être la conséquence d'une adaptation sensorielle, similaire à l'adaptation olfactive des larves de drosophiles (Wuttke et al. 2000). Le C18:1 est attractif pour les larves et semble inoffensif pour ces dernières ; ainsi, l'augmentation de la préférence larvaire pour cet AG pourrait être liée à un renforcement post-ingestif positif comme décrit pour le glucose (Schipanski et al. 2008). Cette hypothèse pourrait être testée, chez des mutants de l'apprentissage (Rutabaga, par exemple ; (Tully et al. 1994), en vérifiant si la pré-exposition au C18:1 augmente également la préférence larvaire pour cet AG.

Plasticité du comportement ovipositeur

Les déterminants du comportement d'oviposition des insectes font l'objet de nombreuses études (Gripenberg et al. 2010). Si le choix du site de ponte par une femelle peut influencer le comportement et la fitness de sa progéniture, ce choix peut être, à son tour, influencé par l'expérience propre de cette femelle, ou par l'adaptation de ses ascendants à un milieu particulier. J'ai donc étudié l'influence d'expositions temporaires (larvaires ou adultes) ou permanentes (inter-générationnelles) aux AGs sur le choix du site des pontes des femelles.

Période critique larvaire et persistance de la mémoire entre la larve et l'adulte

L'exposition des larves de 2^{ème} et 3^{ème} stades (L2 et L3) à un milieu enrichi en C18:0 ou en C18:1 modifie le choix des femelles adultes vis-à-vis d'un site d'oviposition. Les femelles naïves sont

indifférentes au C18:0, alors que celles exposées durant les stades L2 ou L3 au C18:0 (nocif et répulsif pour les larves) sont repoussées par ce composé. A l'inverse, l'exposition larvaire (L2 ou L3) au C18:1 (inoffensif et attractif pour les larves) induit, chez les femelles naïves, une réduction partielle de l'aversion pour cet AG.

Si la transmission des apprentissages de la larve à l'adulte ont été observés chez d'autres insectes, les résultats sont controversés (Blackiston et al. 2008, Shikano et al. 2009) et l'existence d'une telle forme de mémoire a été remise en cause chez *D. melanogaster* (Jellies 1981, Tully et al. 1994, Barron et al. 1999). En effet, la modification du comportement des adultes pourrait être induite par la persistance de résidus de l'environnement larvaire sur la pupa (résidus qui influenceraient précocement les adultes émergeant). Au cours de ce travail, le nettoyage précautionneux des larves après leur exposition aux AGs a permis d'éviter ce biais, et nos résultats montrent qu'il existerait donc bien une persistance mnémonique de l'effet de cette exposition lors de la métamorphose.

Malgré un remaniement drastique du système chimio-sensorielle périphérique et central lors de la métamorphose chez les insectes holométaboles, certaines structures centrales, comme le lobe gamma des corps pédonculés, sont relativement conservées de la larve à l'adulte (Armstrong et al. 1998). Les corps pédonculés étant impliqués dans les processus de mémorisation et d'apprentissage chez la drosophile (Heisenberg 2003, Campbell et al. 2010), il est donc possible que leur conservation partielle lors de la métamorphose permettent la persistance des apprentissages larvaires, associatifs ou non associatifs, chez l'adulte. Tester l'effet de l'exposition larvaire sur les préférences des adultes en inactivant de façon transitoire cette structure, en utilisant, par exemple, des lignées MB247-gal4, 201Y-gal4 spécifiques des corps pédonculés (Acebes et al. 2012) couplée avec un système inactivant les cellules (TNT, rpr), permettrait de vérifier cette hypothèse.

Période critique adulte

Le C18:1 est aversif pour les femelles naïves, mais l'exposition à cet AG durant les seules 24 premières heures de la vie imaginale permet d'induire une diminution partielle de l'aversion chez adulte, alors qu'une exposition du 2^{ème} au 4^{ème} jour après l'émergence n'a aucun effet. Cette période critique pour l'exposition au C18:1 correspond au début de la période de maturation chimiosensorielle durant laquelle la drosophile adulte est capable d'adapter ses réponses comportementales à des stimuli chimiques (au minimum olfactifs) (Devaud et al. 2003). A l'opposé,

l'exposition au C18:0 durant le 1^{er} ou les 4 premiers jour(s) de vie imaginale ne provoque pas de modification significative du comportement ovipositeur. Cette différence d'adaptation observée entre C18:0 et au C18:1 peut être liée à la différence de réponses des femelles naïves face à ces deux AGs : indifférentes au C18:0, qui est inoffensif pour elle, elles sont repoussées par le C18:1, qui leur est toxique (Fougeron et al. 2011). La plasticité de la réponse permet donc aux drosophiles de s'adapter à un nouveau milieu légèrement toxique (comme un milieu riche en C18:1), alors qu'aucune adaptation n'est nécessaire pour utiliser un milieu inoffensif (comme un milieu riche en C18:0).

Effets intergénérationnels de l'exposition aux AGs sur les préférences

S'il est connu qu'une alimentation enrichie en AGs provoque l'obésité et le diabète chez la larve et l'adulte de drosophile (Baker et al. 2007), les conséquences d'une exposition à un milieu enrichi en un AG précis durant plusieurs générations n'avaient pas été étudiées à ce jour, ni chez la drosophile ni chez d'autres modèles. Durant ma thèse, j'ai mis en évidence qu'une exposition permanente (durant 10 ou 30 générations) à un milieu riche en C18:0 ou en C18:1 ont des effets différents sur les comportements larvaire et adulte.

Plasticité du comportement larvaire

Quelle que soit la concentration utilisée (0.5 ou 5 mg/ml), l'exposition permanente à un milieu riche en C18:1 induit une augmentation de l'attraction des larves pour cet AG, même si cet effet est plus précoce et plus fort pour la concentration la plus forte. Par contre, les larves remises sur du milieu standard après la 9^{ème} génération d'exposition au C18:1 ne sont pas plus attirées par ce composé que les larves contrôles. Ces résultats pourraient indiquer que l'exposition permanente au C18:1 n'entraîne aucune adaptation génétique du comportement larvaire et que l'effet observé pourrait être dû à une forme d'apprentissage qui ne se renforce pas entre la 1^{ère} et la 10^{ème} génération. A l'opposé, l'exposition permanente au C18:0 provoque une réduction significative de l'aversion larvaire au C18:0 à partir de la 10^{ème} génération, et cette dernière persiste même pour les larves remises sur du milieu standard après la 9^{ème} génération d'exposition. Contrairement au C18:1, l'exposition au C18:0 pourrait donc induire une adaptation génétique (ou épigénétique) des préférences larvaires. De plus, placées sur du C18:0, les larves naïves présentent un comportement similaire à celle de larves face à un stimulus nociceptif (Tracey Jr et al. 2003, Fougeron et al. 2011).

Il serait donc intéressant de vérifier si cette réaction au C18:0 existe chez des lignées mutantes pour la nociception (*painless*, (Tracey Jr et al. 2003) et, le cas échéant, évaluer à court et long terme la plasticité de la réponse larvaire aux AGs dans ces lignées.

Plasticité du comportement ovipositeur

Contrairement au comportement larvaire, l'exposition à un milieu riche en C18:0 (0.5 mg/ml) durant 30 générations, n'induit aucune modification du comportement ovipositeur. A l'opposé, une aversion des femelles à cet AG apparaît après une seule génération d'exposition au C18:0 à 5 mg/ml. Cette aversion disparaît après 10 générations passées sur le milieu enrichi et les femelles remises sur du milieu standard après la 9^{ème} génération d'exposition (F10-Std) sont fortement attirées par le C18:0. L'exposition permanente au C18:0 pourrait donc induire une adaptation génétique du comportement ovipositeur des individus exposés, mais le choix du site d'oviposition par la femelle étant influencé par son expérience larvaire, les modifications du comportement ovipositeur reflètent peut-être simplement l'adaptation des larves au C18:0.

L'exposition permanente au C18:1 induit une augmentation de la préférence d'oviposition envers cet AG. A faible concentration (0.5 mg/ml), les femelles sont attirées par le C18:1 dès la première génération mais cet effet disparaît durant les générations suivantes. L'exposition permanente à un milieu enrichi en C18:1 à forte concentration (5 mg/ml), entraîne une réduction durable de l'aversion des femelles naïves à cet AG et cet effet persiste chez les femelles remises sur du milieu standard après la 9^{ème} génération d'exposition (F10-Std), ce qui pourrait indiquer une adaptation génétique (ou épigénétique) du comportement des femelles.

Effets intra- et intergénérationnels des expositions aux AGs sur les traits de vie

L'acide stéarique induit des effets transitoires sur les traits de vie des individus

Si la fécondité est peu influencée par une exposition au C18:0, en revanche, et bien que cet effet ne soit pas très clair, cette exposition affecte légèrement la survie des adultes. En effet, la mortalité des individus exposés au C18:0 augmente légèrement, mais uniquement chez les femelles de la 1^{ère} génération exposée à une forte dose (5 mg/ml) de cet AG. Cependant, une exposition au C18:0, à cette même concentration, durant les 4 premiers jours de la vie adulte n'induit une augmentation significative de la mortalité que chez les mâles (bien que nette, l'augmentation de mortalité des femelles n'est pas significative), et la même exposition durant le seul premier jour de vie imaginale n'a aucun effet chez les individus des deux sexes. Le développement, au cours des générations, d'une tolérance au C18:0 de l'adulte pourrait n'être que la conséquence de l'adaptation des larves à ce composé. En conséquence, l'exposition au C18:0 pendant plusieurs générations pourrait favoriser la sélection des individus résistants aux effets "délétères" de cet AG. Cette hypothèse permettrait également d'expliquer pourquoi les larves de la 1^{ère} génération, exposée au C18:0, souffrent d'un léger retard de développement et d'une faible hausse de mortalité larvaire (associé à une augmentation de la taille du mâle), et que ces effets disparaissent à la 10^{ème} génération.

La viabilité embryonnaire augmente chez les œufs déposés sur un milieu enrichi en C18:0, mais cet effet disparaît pour des œufs issus de lignées exposées en permanence sur cet AG et placés sur du milieu standard (F10-std). Ceci suggère un effet direct du milieu sur la survie embryonnaire, comparable à l'influence de l'environnement nutritionnel sur les embryons de certains mammifères, comme les AGs saturés, qui ont un effet délétère dans le développement musculaire des rats nouveau-nés (de Vries et al. 1997).

L'effet le plus surprenant du C18:0 (à forte dose) est celui qu'il exerce durablement sur le sex-ratio (F/M) des larves et des adultes dès la première génération d'exposition (F1) : les populations élevées sur du milieu enrichi C18:0 comptent plus de femelles (± 60 vs 40%) ; cet effet persiste même lorsque les individus sont transférés sur du milieu standard après la 9^{ème} génération sur du C18:0 (F10-Std). Ces résultats suggèrent, non seulement un effet direct du C18:0 sur l'embryon

(observable en F1), mais également une adaptation génétique (ou épigénétique) puisque cet effet persiste après une exposition durant 10 générations et ce, même en l'absence de cet AG (F10-Std). Cet effet, quoique favorisant les femelles chez la drosophile, est comparable à ce qui a été décrit chez la souris: chez cette espèce, le contenu en AGs saturés de l'alimentation maternelle diminue le sex-ratio (F/M) de la descendance (Rosenfeld et al. 2004). Dans le cas de la souris, cette modification du sex-ratio serait dû, soit à une différence de motilité entre les gamètes mâles et femelles, soit à une sélectivité différentielle des ovocytes vis-à-vis de ces gamètes (Rosenfeld et al. 2004).

Il n'y a pas d'adaptation aux effets délétères de l'acide oléique

Le milieu enrichi en C18:1 influence négativement la fitness des individus en induisant une augmentation de la mortalité chez les adultes des deux sexes et une réduction de la fécondité. Cependant, si ces effets apparaissent dès la première génération d'exposition et perdurent tant que les individus sont élevés sur le milieu riche en C18:1, ils disparaissent dès que ces individus sont remis sur un milieu standard (F10-Std et F30-Std). Le C18:1 a donc, vraisemblablement, plus un effet toxique direct qu'un effet génétique sur les drosophiles adultes. De plus, l'exposition permanente au C18:1 (à forte dose) entraîne, après 10 générations, un ralentissement du développement pré-imaginal corrélé à un accroissement de la taille des larves ; ces effets perdurent même après un retour des larves sur milieu standard (F10-std).

Ceci pourrait être dû à un impact du C18:1 sur les gènes impliqués dans la croissance larvaire (Colombani et al. 2003, Baker et al. 2007) mais aussi par un effet maternel (contenu en AG de l'œuf).

Le C18:0 et le C18:1 induisent donc des effets très différents sur les traits de vie qui ne sont pas sujets à la même plasticité. Si les effets du C18:0 sont réversibles et montrent une grande capacité d'adaptation des drosophiles à leur environnement, les effets du C18:1 sur les traits de vie adultes et larvaires ne diminuent pas avec le nombre de générations. Les AGs saturés et insaturés sont connus pour avoir des conséquences métaboliques différentes chez les mammifères (Woollett et al. 1992, Stein et al. 1997) mais les conséquences de leur exposition à long terme ont été peu étudiées. Grâce au modèle drosophile, il est donc possible d'étudier ces conséquences intergénérationnelles. Il serait également intéressant de comparer, par exemple, l'expression de différents acteurs protéiques (FABPs, désaturases) ou de certains facteurs de transcription (SREBP) entre des lignées exposées aux AGs et des lignées contrôles et ceci, afin d'envisager l'effet d'une

exposition multigénérationnelle aux AGs sur la régulation de ces acteurs.

Plasticité phénotypique et évolution

D'origine africaine, *D. melanogaster* est aujourd'hui présente sur l'ensemble de la planète, ce qui témoigne des fortes capacités d'adaptation de cette espèce (Throckmorton 1975). L'ensemble des mécanismes permettant à une espèce de s'adapter à un nouvel environnement, et notamment le rôle de la plasticité phénotypique d'une espèce dans l'adaptation (génétique) à ce nouvel environnement, est de plus en plus étudié (Price et al. 2003, Auld et al. 2010). Dans quelle mesure la plasticité phénotypique pourrait accélérer ou freiner les processus d'adaptation génétique à un nouvel environnement reste un sujet de controverse (Badyaev 2005, Grether 2005).

Au cours de ce travail, la plasticité des préférences de *D. melanogaster* envers le C18:0 ou le C18:1 a été mise en évidence. En plus de leur effet sur les préférences moyennes, l'exposition au C18:0 ou au C18:1 n'a pas le même impact sur la variabilité des réponses d'oviposition observées (Annexe figure 38). En effet, si les réponses envers le C18:0 sont très variables chez les femelles naïves (statistiquement indifférentes), les réponses d'oviposition des femelles exposées au C18:0 sont significativement moins variables que celle des femelles naïves. Cette baisse de variabilité observée après exposition au C18:0 (F1, F10-Std) pourrait traduire l'adaptation de certains individus à un nouvel environnement (Price et al. 2003).

A l'inverse, tous les groupes de femelles naïves évitent de pondre sur les milieux enrichis en C18:1 alors que les femelles exposées au C18:1 montrent une grande variabilité de comportement ovipositeur (aversion complète, indifférence, préférence complète) envers le C18:1. D'autres études ont montré qu'un environnement stressant, comme l'est le milieu enrichi en C18:1 pour les adultes (ou celui enrichi en C18:0 pour les larves), est susceptible d'augmenter la variabilité génétique et phénotypique d'un trait (Parsons 1997, Hoffmann et al. 1999) sans pour autant induire une adaptation de la population (meilleure fitness dans le nouvel environnement que la population originelle). Cette variabilité serait expliquée par une variabilité génétique cryptique, c'est-à-dire, qui ne s'exprimerait pas dans les conditions environnementales habituelles mais serait induite par un environnement stressant afin de faciliter les processus de sélection. Cependant, peu d'études empiriques permettent de conforter cette hypothèse (McGuigan et al. 2009). Malgré

l'absence d'adaptation aux effets délétères du milieu enrichi en C18:1, les femelles montrent toujours une grande variabilité de préférence d'oviposition, même lorsqu'elles sont remises sur milieu standard (F10 et F10-Std), ce qui ne suggère pas que la population soit soumise à une forme de sélection directionnelle, mais permettrait de maintenir des alternatives de choix de ponte. Quoiqu'il en soit, il serait intéressant de tester de nouveau les préférences d'oviposition et les traits de vie après un plus grand nombre de générations passées sur le C18:1 et notamment de tester la fitness de la progéniture des femelles montrant une préférence complète pour le C18:1 par rapport à celle montrant une aversion complète pour le C18:1.

Métabolisme des AG et plasticité

La différence de résultats obtenus entre les conséquences de l'exposition au milieu enrichi en C18:0 ou en C18:1 souligne la nécessité de mieux comprendre les différences entre métabolismes des AGs saturés et insaturés chez les larves et les adultes de *D. melanogaster*. En effet, pourquoi les drosophiles sont-elles plus capables de s'adapter aux effets d'une exposition au C18:0 alors que les effets délétères du C18:1, et notamment sa toxicité vis-à-vis des adultes, sont toujours présents après 10 générations passé sur un milieu enrichi en C18:1 ?

Le C18:1 est l'un des AG (avec le C16:0 et le C16:1) les plus représentés parmi les AG totaux chez les drosophiles, notamment chez les larves (Green et al. 1979). Les mutants homozygotes pour le facteur de transcription SREBP impliqué dans la régulation de la synthèse des AGs, ne survivent pas au-delà du stade larvaire L2, à moins que leur alimentation soit enrichie en AGs, notamment en C18:1 (Kunte et al. 2006). De plus, la même létalité larvaire est observée chez des mutants de la désaturase 1, sauf si leur alimentation est enrichie en AGs insaturés (François Bousquet, données non publiées). Dans leur ensemble, ces résultats soulignent l'importance des besoins en C18:1 pour le développement des individus et pourraient expliquer la préférence des larves pour le C18:1. Il est possible que le C18:1 soit directement impliqué dans la régulation de la croissance larvaire, ou via des acteurs du métabolisme lipidiques comme SREBP ou HFN4 (Seegmiller et al. 2002, Palanker et al. 2009) contrairement au C18:0. L'importance du C18:1 dans le métabolisme lipidique des larves de drosophiles limiterait donc leur capacité d'adaptation à cet AG.

La consommation d'un milieu enrichi en C18:1 provoque, chez les adultes de drosophiles, une mortalité qui ne diminue pas après 10 ou 30 générations. Chez les mammifères, une alimentation enrichie en AGs saturés augmente le risque de développer, entre autre, des pathologies cardiovasculaires (Hunter et al. 2010) alors qu'un régime riche en AGs insaturés diminue la mortalité liée à ces mêmes pathologies (Serra-Majem et al. 2006). Les AGs saturés sont, en effet, considérés comme plus lipotoxiques que les insaturés pour de nombreux types cellulaires en raison, par exemple, de la production de lipides préapoptotiques (de Vries et al. 1997, Cnop et al. 2001). Cette lipotoxicité, diminue lorsque les AGs sont stockés sous forme de triglycérides et serait plus favorisée par les AGs mono-insaturés et poly-insaturés que par les AGs saturés (Listenberger et al. 2003). Les AGs insaturés, et notamment le C18:1, pourraient donc être aussi cytotoxiques que les AGs saturés (Listenberger et al. 2003, Malhi et al. 2006). Chez les adultes de *D. melanogaster*, seul le C18:1 induit une mortalité importante (que l'on retrouve pour le C18:3, (Fougeron et al. 2011)) et, contrairement à celle observée avec le C18:0, cette mortalité ne diminue pas avec le nombre de générations. Contrairement aux mammifères, l'exosquelette des drosophiles limite la capacité de stockage des triglycérides au niveau des cellules du corps gras. Il est possible que les adultes élevés sur milieu enrichi en C18:1 soient exposés à une concentration croissante de C18:1, ce qui expliquerait la mortalité observée sur 22 jours. Cette limite mécanique du stockage des AGs expliquerait pourquoi les drosophiles ne sont pas capables de s'adapter, même après 10 générations, à une surconsommation de C18:1. Cependant, si nous suivons cette logique, on devrait observer une mortalité importante avec le C18:0, ce qui limite la portée de cette hypothèse. Les AGs mono-insaturés sont préférentiellement stockés sous forme de TAG (Ntambi et al. 2004) et il est possible qu'un surplus de C18:0 soit plus facilement métabolisable qu'un surplus de C18:1, qui lui, sera préférentiellement stocké sous forme de TAG. Quoique qu'il en soit, ces résultats soulignent la nécessité de mieux comprendre le métabolisme des AGs chez la drosophile et notamment les différents rôles que peuvent avoir les AGs saturés et insaturés. Il serait nécessaire de mesurer la proportion d'AGs saturés et insaturés chez des individus élevés sur milieu enrichi par rapport à des individus élevés sur milieu standard pour avoir une meilleure idée du devenir des AGs alimentaires dans l'organisme des drosophiles.

Si les AGs saturés ont longtemps été considérés comme plus néfastes que les AGs insaturés pour les mammifères, cette hypothèse est aujourd'hui remise en question et l'importance du ratio entre

Omega3 et Omega 6 est aujourd'hui très étudiée (Simopoulos 2002). De façon intéressante, des rats élevés sur un milieu riche en C18:2 (Oméga 6) voient leur masse lipidique augmenter au cours des générations, malgré un apport lipidique et énergétique similaire (Massiera et al. 2010). L'obésité se renforce alors au fur et à mesure des générations, comme nous avons pu l'observer pour les larves de drosophiles élevées sur milieu riche en C18:1 (leur taille augmente avec le nombre de générations passées sur milieu enrichi). Il serait nécessaire de mesurer la taille des adipocytes pour être sûr que l'effet soit similaire à celui observé chez les rats, mais, quoiqu'il en soit, cela montre qu'un effet nocif lié aux AGs insaturés est présent à la fois chez les mammifères et chez les drosophiles. Il serait également intéressant d'analyser plus précisément les conséquences d'un enrichissement du milieu avec un oméga 3 comme le C18:3 chez la drosophile par rapport à un enrichissement en C18:2.

L'alimentation humaine est de plus en plus riche en AGs et les pathologies liées à la surconsommation de gras constituent un problème de santé publique à l'échelle mondiale. Durant cette thèse, j'ai montré que, malgré des différences anatomiques et fonctionnelles, le modèle drosophile est un choix pertinent pour étudier les conséquences à long-terme d'un milieu enrichi en AGs saturés ou insaturés, que ce soit en terme de préférences ou pour l'étude de traits de vie, reflets indirects du métabolisme lipidiques.

Les drosophiles sont capables de percevoir les AGs et leurs préférences envers ces derniers évoluent spécifiquement en fonction de l'AG, de leurs expériences larvaire et adulte, et du nombre de générations exposées à ces AGs. Si les drosophiles sont capables de s'adapter à long terme aux effets faiblement délétères du C18:0, mais pas à ceux du C18:1, la plasticité de leur comportement ovipositeur offre aux femelles la capacité de coloniser de nouveaux milieux, même si ceux-ci leur sont inhospitaliers. De nombreuses questions restent néanmoins sans réponses et plusieurs devront être développées dans les travaux futurs. Un certain nombre des effets observés sur milieu enrichi perdurent lorsque les individus sont remis sur du milieu standard (sex-ratio, taille des larves, préférences d'oviposition), suggéreraient l'existence de mécanismes épigénétiques qui seraient à l'origine de la transmission de certains caractères acquis. Enfin, une meilleure compréhension du métabolisme des AGs saturés ou insaturés permettrait de comprendre l'incapacité des drosophiles à s'adapter aux effets nocifs du C18:1.

ANNEXES

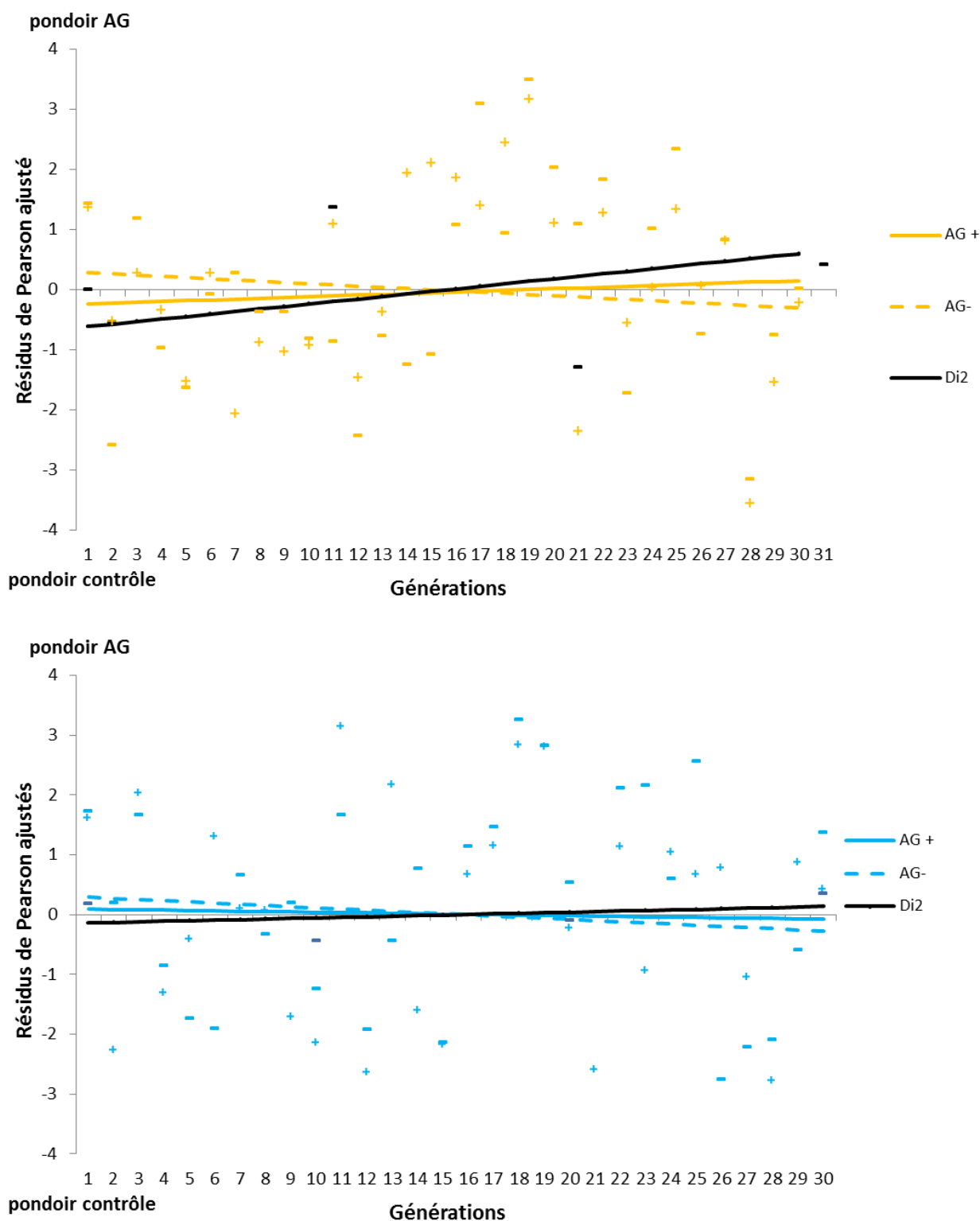


Figure 35 Résidus des lignées issues de la sélection sur le comportement ovipositeur.

Les résidus de Pearson ajustés des lignées (AG+ : +, AG- : -) issues de la sélection du comportement ovipositeur pour le C18:0 (en haut) et le C18:1 (en bas) sont représentés avec leur droites de régression.

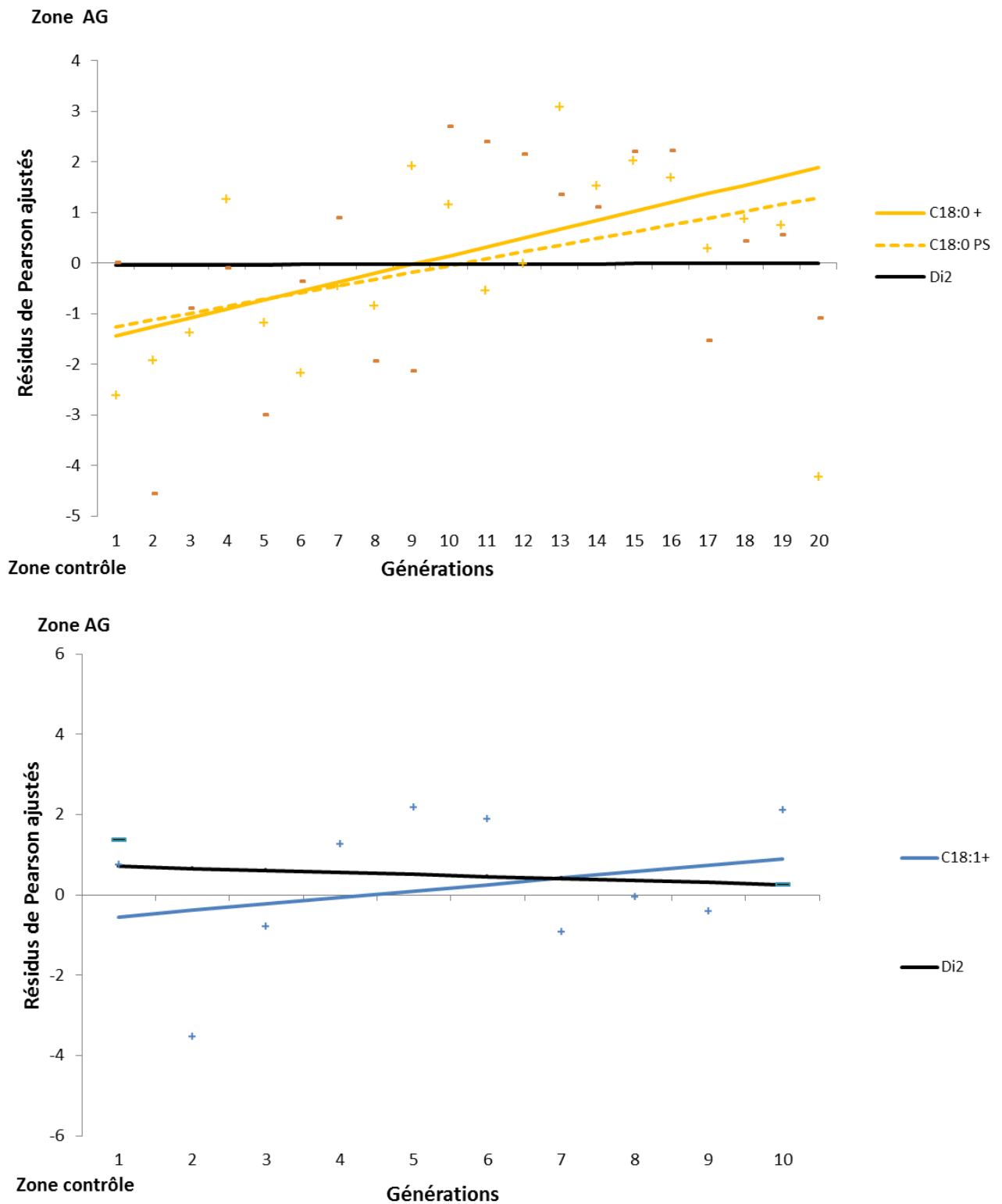


Figure 36 La tolérance envers le C18:0 est renforcée par la sélection du comportement larvaire.

Les résidus de Pearson des larves issues des lignées de sélection larvaire (AG+ : + et C18:0 PS) testées pour leur préférences envers le C18:0 (en haut) et le C18:1 (en bas) dans le screen 2 sont représentées avec les droites de régression correspondantes.

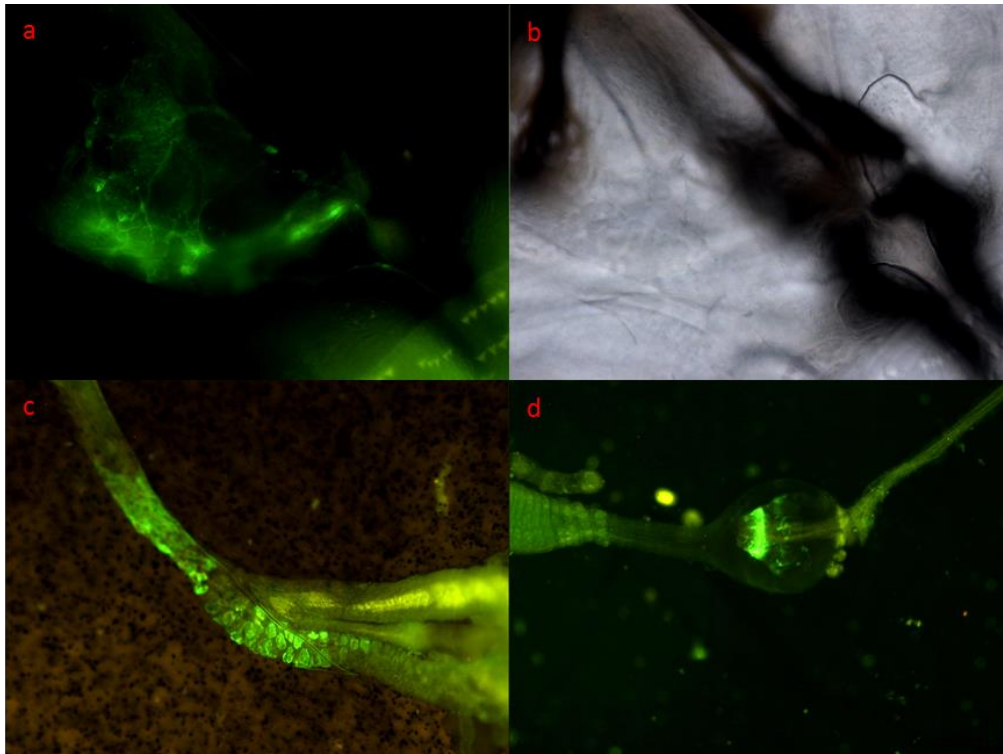


Figure 37 Expression de SNMP1 chez les larves L3.

Des larves L3 SNMP-gal4/uas-CD8 GFP sont observées au microscope à fluorescence. Le système utilisé est dédié à l'expression et à l'adressage membranaire de la protéine fluorescente GFP dans les cellules exprimant SNMP1. (a) Structure interne dont partent des projections axonales (organe pharyngal ?) localisée derrière les crochets (bouche) que l'on voit en (b) d'un point de vue dorsale. (c) Cellules de l'intestin (midgut) situées après le proventricule (structure reliant l'œsophage à l'intestin chez *D.melanogaster*) que l'on voit en (d). Chez les adultes, SNMP1 est principalement exprimé dans les antennes et les palpes maxillaires (Benton et al. 2007).

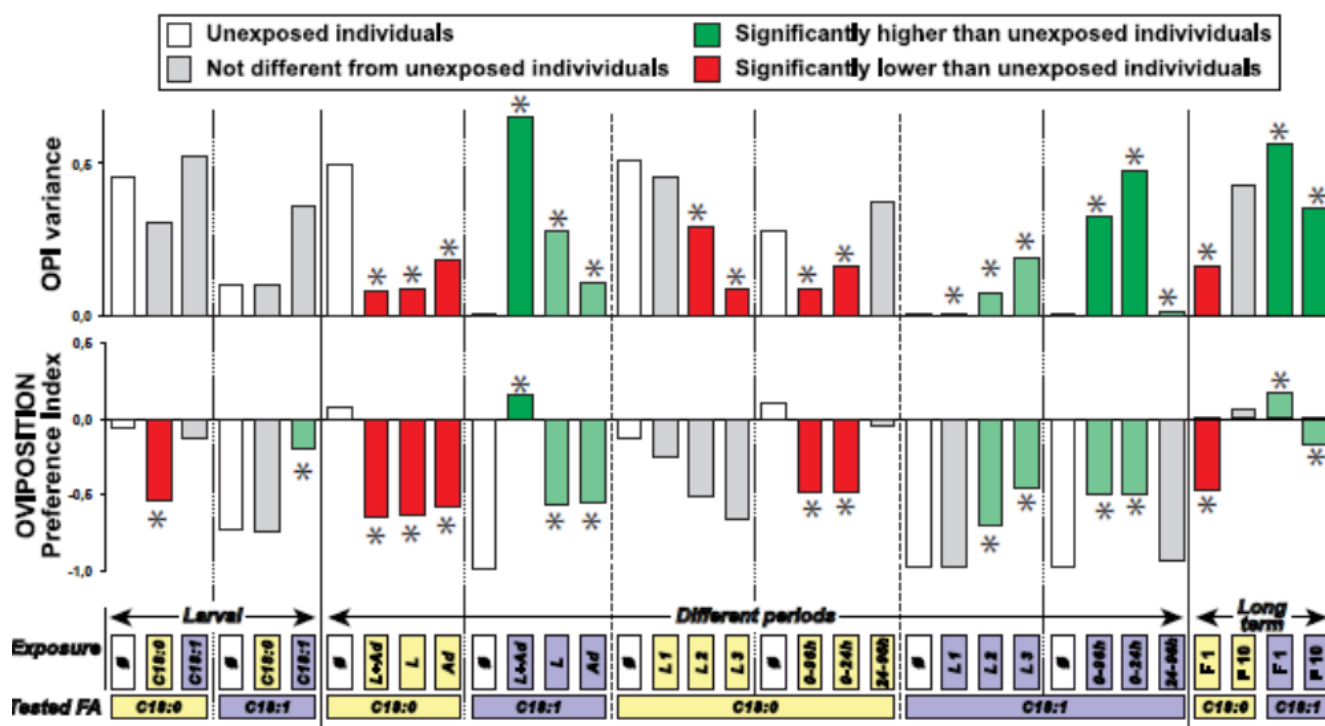


Figure 38 La variabilité dans les réponses d'oviposition est diminuée par l'exposition au C18:0 et augmentée par l'exposition au C18 :1.

(Les variances ainsi que les moyennes correspondantes sont représentées en haut pour le C18:0 et le C18:1 en rouge lorsque significativement plus faible que les paramètres de la lignée contrôle ou en vert lorsqu'elles sont significativement plus élevées (test de Levene pour comparer les variances). La coloration grise signifie qu'il n'y a pas de différence significative avec les individus non exposés.

BIBLIOGRAPHIE

- Abdoul-Azize, S., et al. (2013). "Ca²⁺ signaling in taste bud cells and spontaneous preference for fat: unresolved roles of CD36 and GPR120." Biochimie.
- Acebes, A., et al. (2012). "Central Adaptation to Odorants Depends on PI3K Levels in Local Interneurons of the Antennal Lobe." The Journal of Neuroscience **32**(2): 417-422.
- Ache, B. W., et al. (2005). "Olfaction: Diverse Species, Conserved Principles." Neuron **48**(3): 417-430.
- Armstrong, J. D., et al. (1998). "Metamorphosis of the mushroom bodies; large-scale rearrangements of the neural substrates for associative learning and memory in *Drosophila*." Learning & Memory **5**(1): 102-114.
- Arrese, E. L., et al. (2001). "Lipid storage and mobilization in insects: current status and future directions." Insect Biochemistry and Molecular Biology **31**(1): 7-17.
- Arrese, E. L., et al. (2006). "The main triglyceride-lipase from the insect fat body is an active phospholipase A1: Identification and characterization." Journal of lipid research **47**(12): 2656-2667.
- Arrese, E. L., et al. (2010). "Insect fat body: energy, metabolism, and regulation." Annual review of entomology **55**: 207.
- Arrese, E. L., et al. (1994). "Purification and properties of a phosphorylatable triacylglycerol lipase from the fat body of an insect, *Manduca sexta*." Journal of lipid research **35**(9): 1652-1660.
- Auld, J. R., et al. (2010). "Re-evaluating the costs and limits of adaptive phenotypic plasticity." Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences **277**(1681): 503-511.
- Badyaev, A. V. (2005). "Stress-induced variation in evolution: from behavioural plasticity to genetic assimilation." Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences **272**(1566): 877-886.
- Baker, K. D., et al. (2007). "Diabetic Larvae and Obese Flies—Emerging Studies of Metabolism in *Drosophila*." Cell Metabolism **6**(4): 257-266.
- Barron, A. B. (2001). "The life and death of Hopkins' host-selection principle." Journal of Insect Behavior **14**(6): 725-737.
- Barron, A. B., et al. (1999). "Preimaginal conditioning in *Drosophila* revisited." Animal behaviour **58**(3): 621-628.
- Bayol, S. A., et al. (2007). "A maternal 'junk food' diet in pregnancy and lactation promotes an exacerbated taste for 'junk food' and a greater propensity for obesity in rat offspring." British Journal of Nutrition **98**(4): 843-851.
- Bellinger, L., et al. (2004). "Prenatal exposure to a maternal low-protein diet programmes a preference for high-fat foods in the young adult rat." British journal of Nutrition **92**(3): 513-520.

- Benton, R., et al. (2006). "Atypical membrane topology and heteromeric function of Drosophila odorant receptors in vivo." PLoS biology **4**(2): e20.
- Benton, R., et al. (2009). "Variant Ionotropic Glutamate Receptors as Chemosensory Receptors in Drosophila." Cell **136**(1): 149-162.
- Benton, R., et al. (2007). "An essential role for a CD36-related receptor in pheromone detection in Drosophila." Nature **450**(7167): 289-293.
- Bisulco, S., et al. (2003). "Olfactory discrimination of short chain fatty acids in rats with large bilateral lesions of the olfactory bulbs." Chemical senses **28**(5): 361-370.
- Blackiston, D. J., et al. (2008). "Retention of memory through metamorphosis: can a moth remember what it learned as a caterpillar?" PLoS One **3**(3): e1736.
- Blomquist, G. J., et al. (1991). "Polyunsaturated fatty acids and eicosanoids in insects." Insect Biochemistry **21**(1): 99-106.
- Bosch, O. J., et al. (2000). "Contribution of fatty acids to olfactory host finding of female Aedes aegypti." Chemical Senses **25**(3): 323-330.
- Buck, L., et al. (1991). "A novel multigene family may encode odorant receptors: a molecular basis for odor recognition." Cell **65**(1): 175-187.
- Burr, G. O., et al. (1929). "A new deficiency disease produced by the rigid exclusion of fat from the diet." Journal of Biological Chemistry **82**(2): 345-367.
- Buszczak, M., et al. (2002). "Mutations in the midway gene disrupt a Drosophila acyl coenzyme A: diacylglycerol acyltransferase." Genetics **160**(4): 1511-1518.
- Campbell, R. A., et al. (2010). "The mushroom body." Current Biology **20**(1): R11-R12.
- Canavoso, L. E., et al. (2001). "Fat metabolism in insects." Annual review of nutrition **21**(1): 23-46.
- Canavoso, L. E., et al. (2004). "Lipid transfer particle mediates the delivery of diacylglycerol from lipophorin to fat body in larval Manduca sexta." Journal of lipid research **45**(3): 456-465.
- Chandrashekar, J., et al. (2006). "The receptors and cells for mammalian taste." Nature **444**(7117): 288-294.
- Chandrashekar, J., et al. (2000). "T2Rs function as bitter taste receptors." Cell **100**(6): 703-711.
- Chen, M., et al. (2001). "Gut expression and regulation of FAT/CD36: possible role in fatty acid transport in rat enterocytes." American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism **281**(5): E916-E923.
- Chen, X., et al. (2011). "A gustotopic map of taste qualities in the mammalian brain." Science **333**(6047): 1262-1266.
- Chertemps, T., et al. (2007). "A female-biased expressed elongase involved in long-chain hydrocarbon biosynthesis and courtship behavior in Drosophila melanogaster." Proceedings of the

National Academy of Sciences **104**(11): 4273-4278.

Chess, K. F., et al. (1985). "Oviposition site selection by *Drosophila melanogaster* and *Drosophila simulans*." Evolution: 869-877.

Clayton, R. B. (1964). "The utilization of sterols by insects." Journal of lipid research **5**(1): 3-19.

Cnop, M., et al. (2001). "Inverse relationship between cytotoxicity of free fatty acids in pancreatic islet cells and cellular triglyceride accumulation." Diabetes **50**(8): 1771-1777.

Collatz, K., et al. (1974). "The structure of the emulsifying substances in several invertebrates." J Comp Physiol **94**: 339-352.

Colomb, J., et al. (2007). "Architecture of the primary taste center of *Drosophila melanogaster* larvae." Journal of Comparative Neurology **502**(5): 834-847.

Colombani, J., et al. (2003). "A Nutrient Sensor Mechanism Controls *Drosophila* Growth." Cell **114**(6): 739-749.

Dadd, R., et al. (1979). "Essential fatty acid for the mosquito *Culex pipiens*: Arachidonic acid." Journal of Insect Physiology **25**(6): 495-502.

Dahanukar, A., et al. (2001). "A Gr receptor is required for response to the sugar trehalose in taste neurons of *Drosophila*." Nature neuroscience **4**(12): 1182-1186.

Damak, S., et al. (2007). Fat taste receptors and their methods of use, WO Patent 2,007,014,824.

Dawkins, R. (1999). The extended phenotype: The long reach of the gene, Oxford University Press.

de Vries, J. E., et al. (1997). "Saturated but not mono-unsaturated fatty acids induce apoptotic cell death in neonatal rat ventricular myocytes." Journal of lipid research **38**(7): 1384-1394.

Dethier, V. (1980). "Food-aversion learning in two polyphagous caterpillars, *Diacrisia virginica* and *Estigmene congrua*." Physiological Entomology **5**(4): 321-325.

Devaud, J. M., et al. (2003). "Structural and functional changes in the olfactory pathway of adult *Drosophila* take place at a critical age." Journal of neurobiology **56**(1): 13-23.

Diehl, P. A. (1975). "Synthesis and release of hydrocarbons by the oenocytes of the desert locust, *Schistocerca gregaria*." Journal of Insect Physiology **21**(6): 1237-1246.

Douglas, A. (1998). "Nutritional interactions in insect-microbial symbioses: aphids and their symbiotic bacteria *Buchnera*." Annual review of entomology **43**(1): 17-37.

Drover, V. A., et al. (2005). "CD36 deficiency impairs intestinal lipid secretion and clearance of chylomicrons from the blood." Journal of Clinical Investigation **115**(5): 1290-1297.

Dubnau, J., et al. (1998). "Gene discovery in *Drosophila*: new insights for learning and memory." Annual review of neuroscience **21**(1): 407-444.

Fang, S., et al. (2009). "Molecular evolution and functional diversification of fatty acid desaturases

- after recurrent gene duplication in *Drosophila*." Molecular biology and evolution **26**(7): 1447-1456.
- Farris, S. M. (2008). "Structural, functional and developmental convergence of the insect mushroom bodies with higher brain centers of vertebrates." Brain, Behavior and Evolution **72**(1): 1-15.
- Fougeron, A. S., et al. (2011). "Fatty-Acid Preference Changes during Development in *Drosophila melanogaster*." PloS one **6**(10): e26899.
- Fox, C. W. (1993). "A quantitative genetic analysis of oviposition preference and larval performance on two hosts in the bruchid beetle, *Callosobruchus maculatus*." Evolution: 166-175.
- Gabel, B., et al. (1996). "Oviposition response of *Lobesia botrana* females to long-chain free fatty acids and esters from its eggs." Journal of chemical Ecology **22**(1): 161-171.
- Gaillard, I., et al. (2004). "Olfactory receptors." Cellular and Molecular Life Sciences CMLS **61**(4): 456-469.
- Ganesan, K., et al. (2006). "Studies of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) ovipositional responses to newly identified semiochemicals from conspecific eggs." Australian Journal of entomology **45**(1): 75-80.
- Garland, T., et al. (2009). Experimental evolution: concepts, methods, and applications of selection experiments, University of California Pr.
- Géminard, C., et al. (2009). "Remote Control of Insulin Secretion by Fat Cells in *Drosophila*." Cell metabolism **10**(3): 199-207.
- Gerber, B., et al. (2007). "The *Drosophila* larva as a model for studying chemosensation and chemosensory learning: a review." Chemical senses **32**(1): 65-89.
- Gerber, B., et al. (2009). Smelling, tasting, learning: Drosophila as a study case, Springer.
- Gibbs, R. A., et al. (2004). "Genome sequence of the Brown Norway rat yields insights into mammalian evolution." Nature **428**(6982): 493-521.
- Gilbertson, T. A., et al. (1997). "Fatty acid modulation of K⁺ channels in taste receptor cells: gustatory cues for dietary fat." American Journal of Physiology-Cell Physiology **272**(4): C1203-C1210.
- Glendinning, J. I., et al. (2001). "A peripheral mechanism for behavioral adaptation to specific "bitter" taste stimuli in an insect." The Journal of Neuroscience **21**(10): 3688-3696.
- Gordon, D. M. (1983). "Dependence of necrophoric response to oleic acid on social context in the ant, *Pogonomyrmex badius*." Journal of Chemical Ecology **9**(1): 105-111.
- Green, P., et al. (1979). "Changes in the fatty-acid composition of *Drosophila melanogaster* during development and ageing." Archives Of Physiology And Biochemistry **87**(3): 485-491.
- Greenwalt, D., et al. (1995). "Heart CD36 expression is increased in murine models of diabetes and in mice fed a high fat diet." Journal of Clinical Investigation **96**(3): 1382.

- Grether, G. F. (2005). "Environmental change, phenotypic plasticity, and genetic compensation." The American Naturalist **166**(4): E115-E123.
- Gripenberg, S., et al. (2010). "A meta-analysis of preference–performance relationships in phytophagous insects." Ecology Letters **13**(3): 383-393.
- Grönke, S., et al. (2005). "Brummer lipase is an evolutionary conserved fat storage regulator in *Drosophila*." Cell metabolism **1**(5): 323-330.
- Guillou, H., et al. (2010). "The key roles of elongases and desaturases in mammalian fatty acid metabolism: Insights from transgenic mice." Progress in lipid research **49**(2): 186-199.
- Gutierrez, E., et al. (2006). "Specialized hepatocyte-like cells regulate *Drosophila* lipid metabolism." Nature **445**(7125): 275-280.
- Habegger, K. M., et al. (2010). "The metabolic actions of glucagon revisited." Nature Reviews Endocrinology **6**(12): 689-697.
- Hanhoff, T., et al. (2002). "Insights into binding of fatty acids by fatty acid binding proteins." Molecular and cellular biochemistry **239**(1-2): 45-54.
- Harshman, L. G., et al. (2000). "Laboratory selection experiments using *Drosophila*: what do they really tell us?" Trends in Ecology & Evolution **15**(1): 32-36.
- Heisenberg, M. (2003). "Mushroom body memoir: from maps to models." Nature Reviews Neuroscience **4**(4): 266-275.
- Higa, I., et al. (1993). "Genetics of food preference in *Drosophila sechellia*." Genetica **88**(2-3): 129-136.
- Hirasawa, A., et al. (2008). "Free fatty acid receptors and drug discovery." Biological and Pharmaceutical Bulletin **31**(10): 1847-1851.
- Hoffman, A., et al. (1987). "Genetic divergence under uniform selection. III. Selection for knockdown resistance to ethanol in *Drosophila pseudoobscura* populations and their replicate lines." Heredity **58**: 425.
- Hoffmann, A. A., et al. (1999). "Heritable variation and evolution under favourable and unfavourable conditions." Trends in Ecology & Evolution **14**(3): 96-101.
- Holman, R. T. (1998). "The slow discovery of the importance of ω 3 essential fatty acids in human health." The journal of nutrition **128**(2): 427S-433S.
- Howard, R. W., et al. (2005). "ECOLOGICAL, BEHAVIORAL, AND BIOCHEMICAL ASPECTS OF INSECT HYDROCARBONS*." Annu. Rev. Entomol. **50**: 371-393.
- Hunt, B. G., et al. (2011). "Relaxed selection is a precursor to the evolution of phenotypic plasticity." Proceedings of the National Academy of Sciences **108**(38): 15936-15941.
- Hunter, J. E., et al. (2010). "Cardiovascular disease risk of dietary stearic acid compared with trans, other saturated, and unsaturated fatty acids: a systematic review." The American journal of clinical

nutrition **91**(1): 46-63.

Hwang, Y.-S., et al. (1984). "Structure-activity relationship of unsaturated fatty acids as mosquito ovipositional repellents." Journal of chemical ecology **10**(1): 145-151.

Imaizumi, M., et al. (2000). "Effects of oil intake in the conditioned place preference test in mice." Brain research **870**(1): 150-156.

Iqbal, J., et al. (2009). "Intestinal lipid absorption." American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism **296**(6): E1183-E1194.

Jaenike, J. (1983). "Induction of host preference in *Drosophila melanogaster*." Oecologia **58**(3): 320-325.

Janz, N., et al. (2009). "No effect of larval experience on adult host preferences in *Polygona c-album* (Lepidoptera: Nymphalidae): on the persistence of Hopkins' host selection principle." Ecological Entomology **34**(1): 50-57.

Jellies, J. A. (1981). "Associative olfactory conditioning in *Drosophila melanogaster* and memory retention through metamorphosis." Illinois State University, Normal, IL.

Joseph, R. M., et al. (2009). "Oviposition preference for and positional avoidance of acetic acid provide a model for competing behavioral drives in *Drosophila*." Proceedings of the National Academy of Sciences **106**(27): 11352-11357.

Kadohisa, M., et al. (2005). "The primate amygdala: Neuronal representations of the viscosity, fat texture, temperature, grittiness and taste of foods." Neuroscience **132**(1): 33-48.

Kaupp, U. B. (2010). "Olfactory signalling in vertebrates and insects: differences and commonalities." Nature Reviews Neuroscience **11**(3): 188-200.

Keller, K. L., et al. (2012). "Common variants in the CD36 gene are associated with oral fat perception, fat preferences, and obesity in African Americans." Obesity **20**(5): 1066-1073.

Kindel, T., et al. (2010). "The mechanism of the formation and secretion of chylomicrons." Atherosclerosis Supplements **11**(1): 11-16.

Kinnamon, S. C., et al. (1988). "Apical localization of K⁺ channels in taste cells provides the basis for sour taste transduction." Proceedings of the National Academy of Sciences **85**(18): 7023-7027.

Kühnlein, R. P. (2010). Energy homeostasis regulation in *Drosophila*: a lipocentric perspective. Sensory and Metabolic Control of Energy Balance, Springer: 159-173.

Kunte, A. S., et al. (2006). "Fatty acid auxotrophy in *Drosophila* larvae lacking SREBP." Cell metabolism **3**(6): 439-448.

Kwon, J. Y., et al. (2011). "Molecular and cellular organization of the taste system in the *Drosophila* larva." The Journal of Neuroscience **31**(43): 15300-15309.

Laberge, F., et al. (2001). "Neurobiology of fish olfaction: a review." Brain research reviews **36**(1): 46-59.

- Larkin, A., et al. (2010). "Central synaptic mechanisms underlie short-term olfactory habituation in *Drosophila* larvae." Learning & Memory **17**(12): 645-653.
- Lau, H. L., et al. (2012). "Genetic dissection of memory for associative and non-associative learning in *Caenorhabditis elegans*." Genes, Brain and Behavior.
- Laugerette, F., et al. (2005). "CD36 involvement in orosensory detection of dietary lipids, spontaneous fat preference, and digestive secretions." Journal of Clinical Investigation **115**(11): 3177-3184.
- Liberles, S. D., et al. (2006). "A second class of chemosensory receptors in the olfactory epithelium." Nature **442**(7103): 645-650.
- Lin, H.-H., et al. (2007). "A Map of Olfactory Representation in the *Drosophila* Mushroom Body." Cell **128**(6): 1205-1217.
- Listenberger, L. L., et al. (2003). "Triglyceride accumulation protects against fatty acid-induced lipotoxicity." Proceedings of the National Academy of Sciences **100**(6): 3077-3082.
- Liu, L., et al. (2003). "Contribution of *Drosophila* DEG/ENaC Genes to Salt Taste." Neuron **39**(1): 133-146.
- Mackay, T. F., et al. (2009). "The genetics of quantitative traits: challenges and prospects." Nature Reviews Genetics **10**(8): 565-577.
- Majerowicz, D., et al. "Insect Lipid Metabolism: Insights Into Gene Expression Regulation."
- Malhi, H., et al. (2006). "Free fatty acids induce JNK-dependent hepatocyte lipoapoptosis." Journal of Biological Chemistry **281**(17): 12093-12101.
- Mansbach, C. M., et al. (2007). "Development and physiological regulation of intestinal lipid absorption. II. Dietary lipid absorption, complex lipid synthesis, and the intracellular packaging and secretion of chylomicrons." American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology **293**(4): G645-G650.
- Masek, P., et al. (2013). "Drosophila Fatty Acid Taste Signals through the PLC Pathway in Sugar-Sensing Neurons." PLoS Genetics **9**(9): e1003710.
- Massiera, F., et al. (2010). "A Western-like fat diet is sufficient to induce a gradual enhancement in fat mass over generations." Journal of lipid research **51**(8): 2352-2361.
- Mattes, R. D. (2009). "Is there a fatty acid taste?" Annual review of nutrition **29**: 305.
- May, A. (2011). "Experience-dependent structural plasticity in the adult human brain." Trends in cognitive sciences **15**(10): 475-482.
- McGuigan, K., et al. (2009). "Evolutionary consequences of cryptic genetic variation." Trends in ecology & evolution **24**(6): 305-311.
- Mela, D. J., et al. (1994). "No effect of oral or sample temperature on sensory assessment of fat content." Physiology & behavior **56**(4): 655-658.

- Merritt, R., et al. (1992). "Feeding behavior, natural food, and nutritional relationships of larval mosquitoes." Annual Review of Entomology **37**(1): 349-374.
- Mishra, D., et al. (2013). "The Molecular Basis of Sugar Sensing in *Drosophila* Larvae." Current Biology.
- Mombaerts, P. (2004). "Odorant receptor gene choice in olfactory sensory neurons: the one receptor—one neuron hypothesis revisited." Current opinion in neurobiology **14**(1): 31-36.
- Montell, C. (2009). "A taste of the *Drosophila* gustatory receptors." Current opinion in neurobiology **19**(4): 345-353.
- Montmayeur, J.-P., et al. (2010). Fat detection: Taste, texture, and post ingestive effects, CRC Press.
- Mullens, B. A., et al. (2009). "Laboratory trials of fatty acids as repellents or antifeedants against houseflies, horn flies and stable flies (Diptera: Muscidae)." Pest management science **65**(12): 1360-1366.
- Nagayama, S., et al. (2010). "Differential axonal projection of mitral and tufted cells in the mouse main olfactory system." Frontiers in neural circuits **4**.
- Nakamura, M. T., et al. (2004). "Structure, function, and dietary regulation of $\Delta 6$, $\Delta 5$, and $\Delta 9$ desaturases." Nutrition **24**.
- Narise, S., et al. (1991). "Chemical communication of emigration behavior of *Drosophila melanogaster*. II. Identification of chemical substances." 遺伝学雑誌 **66**(4): 411-420.
- Nelson, G., et al. (2001). "Mammalian sweet taste receptors." Cell **106**(3): 381-390.
- Ntambi, J. M., et al. (2004). "Regulation of stearoyl-CoA desaturases and role in metabolism." Progress in lipid research **43**(2): 91-104.
- Osterkamp, J., et al. (1999). "Host-odour recognition in two tick species is coded in a blend of vertebrate volatiles." Journal of Comparative Physiology A **185**(1): 59-67.
- Palanker, L., et al. (2009). "< i> Drosophila</i> HNF4 Regulates Lipid Mobilization and β -Oxidation." Cell metabolism **9**(3): 228-239.
- Parsons, P. A. (1997). Extreme environmental change and evolution, Cambridge University Press.
- Price, T. D., et al. (2003). "The role of phenotypic plasticity in driving genetic evolution." Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences **270**(1523): 1433-1440.
- Ramaekers, A., et al. (2005). "Glomerular Maps without Cellular Redundancy at Successive Levels of the< i> Drosophila</i> Larval Olfactory Circuit." Current biology **15**(11): 982-992.
- Rapport, E., et al. (1983). "Ten generations of *Drosophila melanogaster* reared axenically on a fatty acid-free holidic diet." Archives of insect biochemistry and physiology **1**(3): 243-250.
- Reaume, C., et al. (2006). "The nature of< i> Drosophila melanogaster</i>." Current Biology **16**(16): R623-R628.

- Robertson, H. M., et al. (2003). "Molecular evolution of the insect chemoreceptor gene superfamily in *Drosophila melanogaster*." Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America **100**(Suppl 2): 14537-14542.
- Rodenburg, K. W., et al. (2005). "Lipoprotein-mediated lipid transport in insects: analogy to the mammalian lipid carrier system and novel concepts for the functioning of LDL receptor family members." Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids **1736**(1): 10-29.
- Romer, F. (1980). "Histochemical and biochemical investigations concerning the function of larval oenocytes of *Tenebrio molitor* L.(Coleoptera, Insecta)." Histochemistry **69**(1): 69-84.
- Rooney, A. P. (2009). "Evolution of moth sex pheromone desaturases." Annals of the New York Academy of Sciences **1170**(1): 506-510.
- Rosenfeld, C. S., et al. (2004). "Maternal diet and other factors affecting offspring sex ratio: a review." Biology of Reproduction **71**(4): 1063-1070.
- Russell, C., et al. (2011). "Dietary salt levels affect salt preference and learning in larval *Drosophila*." PloS one **6**(6): e20100.
- Rusten, T. E., et al. (2004). "Programmed Autophagy in the *Drosophila* Fat Body Is Induced by Ecdysone through Regulation of the PI3K Pathway." Developmental cell **7**(2): 179-192.
- Ryan, R. O., et al. (2000). "Lipid transport biochemistry and its role in energy production." Annual review of entomology **45**(1): 233-260.
- Saltiel, A. R., et al. (2001). "Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism." Nature **414**(6865): 799-806.
- Schipanski, A., et al. (2008). "Behavioral analyses of sugar processing in choice, feeding, and learning in larval *Drosophila*." Chemical senses **33**(6): 563-573.
- Scott, R. C., et al. (2004). "Role and Regulation of Starvation-Induced Autophagy in the *Drosophila* Fat Body." Developmental cell **7**(2): 167-178.
- Seegmiller, A. C., et al. (2002). "The SREBP Pathway in *Drosophila*: Regulation by Palmitate, Not Sterols." Developmental cell **2**(2): 229-238.
- Serra-Majem, L., et al. (2006). "Scientific evidence of interventions using the Mediterranean diet: a systematic review." Nutrition Reviews **64**(s1): S27-S47.
- Sfara, V., et al. (2011). "Adaptation of the repellency response to DEET in *Rhodnius prolixus*." Journal of Insect Physiology **57**(10): 1431-1436.
- Shen, L. R., et al. (2010). "*Drosophila* lacks C20 and C22 PUFAs." Journal of lipid research **51**(10): 2985-2992.
- Shikano, I., et al. (2009). "A sensitive period for larval gustatory learning influences subsequent oviposition choice by the cabbage looper moth." Animal Behaviour **77**(1): 247-251.

- Simopoulos, A. P. (2002). "The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids." Biomedicine & pharmacotherapy **56**(8): 365-379.
- Skorupa, D. A., et al. (2008). "Dietary composition specifies consumption, obesity, and lifespan in *Drosophila melanogaster*." Aging cell **7**(4): 478-490.
- Small, D. M. (2010). "Taste representation in the human insula." Brain Structure and Function **214**(5-6): 551-561.
- Smith, S. (1994). "The animal fatty acid synthase: one gene, one polypeptide, seven enzymes." The FASEB journal **8**(15): 1248-1259.
- Snell-Rood, E. C., et al. (2010). "Toward a population genetic framework of developmental evolution: the costs, limits, and consequences of phenotypic plasticity." Bioessays **32**(1): 71-81.
- Soulages, J. L., et al. (1994). "Lipophorin: the structure of an insect lipoprotein and its role in lipid transport in insects." Advances in protein chemistry **45**: 371-416.
- Stein, D. T., et al. (1997). "The insulinotropic potency of fatty acids is influenced profoundly by their chain length and degree of saturation." Journal of Clinical Investigation **100**(2): 398.
- Stocker, R. F. (1994). "The organization of the chemosensory system in *Drosophila melanogaster*: a review." Cell and tissue research **275**(1): 3-26.
- Strausfeld, N. J., et al. (1999). "Olfactory systems: common design, uncommon origins?" Current opinion in neurobiology **9**(5): 634-639.
- Su, C.-Y., et al. (2009). "Olfactory perception: receptors, cells, and circuits." Cell **139**(1): 45-59.
- Svoboda, J. A. (1997). "Variability of metabolism and function of sterols in insects." Biochemistry and function of sterols: 55.
- Tanimura, T., et al. (1982). "Genetic dimorphism in the taste sensitivity to trehalose in *Drosophila melanogaster*." Journal of comparative physiology **147**(4): 433-437.
- Teegarden, S. L., et al. (2009). "Early life exposure to a high fat diet promotes long-term changes in dietary preferences and central reward signaling." Neuroscience **162**(4): 924-932.
- Thorne, N., et al. (2004). "Taste Perception and Coding in *Drosophila*." Current Biology **14**(12): 1065-1079.
- Throckmorton, L. H. (1975). "The phylogeny, ecology and geography of *Drosophila*." Handbook of genetics **3**: 421-469.
- Tillotson, J. L., et al. (1973). "Epidemiology of coronary heart disease and stroke in Japanese men living in Japan, Hawaii, and California: methodology for comparison of diet." The American journal of clinical nutrition **26**(2): 177-184.
- Tracey Jr, W. D., et al. (2003). "painless, a *Drosophila* Gene Essential for Nociception." Cell **113**(2): 261-273.

- Tsuruta, M., et al. (1999). "The orosensory recognition of long-chain fatty acids in rats." Physiology & behavior **66**(2): 285-288.
- Tully, T., et al. (1994). "Memory through metamorphosis in normal and mutant *Drosophila*." The Journal of neuroscience **14**(1): 68-74.
- Turunen, S. (1988). "Uptake of dietary lipids: A novel pathway in *Pieris brassicae*." Insect biochemistry **18**(5): 499-505.
- Turunen, S., et al. (1996). Lipid and sugar absorption. Biology of the Insect Midgut, Springer: 293-320.
- Van der Horst, D. J. (2003). "Insect adipokinetic hormones: release and integration of flight energy metabolism." Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology **136**(2): 217-226.
- Van Toller, S. (1999). "Assessing the impact of anosmia: review of a questionnaire's findings." Chemical senses **24**(6): 705-712.
- Vihervaara, T., et al. (2008). "dFOXO Regulates Transcription of a *Drosophila* Acid Lipase." Journal of molecular biology **376**(5): 1215-1223.
- Vinauger, C., et al. (2013). "Learning and memory in *Rhodnius prolixus*: habituation and aversive operant conditioning of the proboscis extension response." The Journal of experimental biology **216**(5): 892-900.
- Vogt, R. G., et al. (2009). "The insect SNMP gene family." Insect biochemistry and molecular biology **39**(7): 448-456.
- Vosshall, L. B., et al. (1999). "A Spatial Map of Olfactory Receptor Expression in the *Drosophila* Antenna." Cell **96**(5): 725-736.
- Vosshall, L. B., et al. (2011). "A unified nomenclature system for the insect olfactory coreceptor." Chemical senses **36**(6): 497-498.
- Vosshall, L. B., et al. (2007). "Molecular architecture of smell and taste in *Drosophila*." Annu. Rev. Neurosci. **30**: 505-533.
- Vrablik, T. L., et al. (2013). "Polyunsaturated fatty acid derived signaling in reproduction and development: Insights from *Caenorhabditis elegans* and *Drosophila melanogaster*." Molecular reproduction and development.
- Walther, T. C., et al. (2012). "Lipid droplets and cellular lipid metabolism." Annual review of biochemistry **81**: 687-714.
- Wang, Z., et al. (2004). "Taste Representations in the *Drosophila* Brain." Cell **117**(7): 981-991.
- Wehling, W. F., et al. (1997). "Evolutionary conservatism of oviposition preference in a widespread polyphagous insect herbivore, *Papilio zelicaon*." Oecologia **111**(2): 209-215.

- Weiss, L. A., et al. (2011). "The Molecular and Cellular Basis of Bitter Taste in *Drosophila*." Neuron **69**(2): 258-272.
- Wicker-Thomas, C. (2011). Evolution of insect pheromones and their role in reproductive isolation and speciation. Annales de la Société Entomologique de France, Taylor & Francis.
- Wigglesworth, V. (1949). "The utilization of reserve substances in *Drosophila* during flight." Journal of Experimental Biology **26**(2): 150-163.
- Woollett, L. A., et al. (1992). "Saturated and unsaturated fatty acids independently regulate low density lipoprotein receptor activity and production rate." Journal of lipid research **33**(1): 77-88.
- Wright, G. A. (2011). "Appetitive learning: memories need calories." Current Biology **21**(9): R301-R302.
- Wuttke, M. S., et al. (2000). "Olfactory adaptation in *Drosophila* larvae." Journal of neurogenetics **14**(1): 43-62.
- Yang, C.-h., et al. (2008). "Drosophila egg-laying site selection as a system to study simple decision-making processes." Science **319**(5870): 1679-1683.
- Yarmolinsky, D. A., et al. (2009). "Common sense about taste: from mammals to insects." Cell **139**(2): 234-244.
- Yoneda, T., et al. (2007). "Reinforcing effect for corn oil stimulus was concentration dependent in an operant task in mice." Life sciences **81**(23): 1585-1592.
- Zhang, Y. V., et al. (2013). "Food experience-induced taste desensitization modulated by the *Drosophila* TRPL channel." Nature neuroscience.
- Zhao, F.-L., et al. (2002). "Dual actions of caffeine on voltage-dependent currents and intracellular calcium in taste receptor cells." American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology **283**(1): R115-R129.
- Zhou, D., et al. (2010). "Experience-based behavioral and chemosensory changes in the generalist insect herbivore *Helicoverpa armigera* exposed to two deterrent plant chemicals." Journal of Comparative Physiology A **196**(11): 791-799.

Summary

Fatty acids (FAs) are involved in many biological functions, from the cell membrane composition to energy storage, through hormone biosynthesis. The consequences of FAs overconsumption are of great concern in terms of public health since the WHO estimates that 2.8 million annual deaths due to obesity and its side effects. If lipid metabolism is relatively well known, the mechanisms underlying the detection and preference for FAs remain little studied. While some studies have shown that the preference of mammals for FAs is modified by early exposure to these compounds, little is known about FAs long-term effects on both their perception and food preference.

The majority of studies have been conducted in mammals, invertebrates being neglected despite the benefits (life cycle, size, ease of breeding, genetic tools) of some models, such as *Drosophila*, and despite the good conservation of lipid metabolism actors during evolution. It has recently been shown that both *Drosophila melanogaster* larvae and adults are able to detect and discriminate FAs according to their unsaturation. Moreover, larval and adult preferences are different: the larvae are attracted by unsaturated FAs (UFAs) and repelled by saturated FAs (SFAs) while adults are repelled by the UFAs and indifferent to SFAs. It has been suggested that these preferences change may reflect different metabolic requirements between larvae and adults.

During my PhD, I studied the effects of intra -and inter- generational exposure to a medium enriched either with a SFA (stearic acid = C18: 0) either with a UFA (oleic acid = C18: 1) on larval and adult preferences (oviposition site selection) toward these FAs, as well as on different life traits. On the other hand, I tested the evolution of both larval and adult preferences for these two FAs after two selection procedures, using these preferences as a selection criterion.

My results show that if the selection processes do not permanently modify the individual preferences for both FAs considered, the behavior of individuals exposed either occasionally during development, either permanently from one to ten generations, is affected by this exposure. In particular, the egg-laying site choice by females is specifically modified by exposure to C18:0 and C18:1 during larval development. If the influence of early sensory experience on food preferences of adults had already been demonstrated in mammals and some holometabolous insects (whose nervous system is almost completely remodeled during metamorphosis), this is the first time that such a phenomenon is clearly demonstrated in *Drosophila*. On the other hand, continuous exposure to each of these FAs permanently alters both oviposition preferences and major life traits (development time, sex ratio, fecundity and adult survival). These results suggest that *Drosophila* is able to adapt to different foods, and this plasticity, probably genetically determined, may explain the success of this generalist species. In addition to their ecological interest, these results also demonstrate the usefulness of this model for the study of intra -and inter- generational preferences plasticity towards FAs.

Résumé

Les acides gras (AGs) sont impliqués dans de nombreuses fonctions biologiques, allant de la composition des membranes cellulaires au stockage de l'énergie, en passant par la biosynthèse des hormones. En terme de santé publique, les conséquences d'une surconsommation en AGs sont très préoccupantes, l'OMS estimant que 2.8 millions de décès par an sont dus à l'obésité et à ses effets secondaires. Si le métabolisme lipidique est relativement bien connu, les mécanismes sous-jacents à la détection et à la préférence pour les AGs restent peu étudiés. Quelques études ont montré que la préférence des mammifères pour les AGs est modifiée par une exposition précoce à ces composés, mais peu de choses sont connues concernant les effets à long terme (intergénérationnel) d'une exposition aux AGs sur leur perception et le comportement alimentaire.

La majorité des observations a été réalisée sur les mammifères ; les invertébrés, comme la *Drosophile*, ont été délaissés malgré leurs avantages (durée du cycle de développement, facilité d'élevage, outils génétiques) et malgré la bonne conservation des acteurs du métabolisme lipidique au cours de l'évolution. Il a été récemment montré dans notre laboratoire, que les larves et les adultes de *Drosophila melanogaster* sont capables de détecter et de discriminer les AGs en fonction de leur degré d'insaturation, et que leurs préférences vis-à-vis des AGs varient: les larves sont attirées par les AGs insaturés et repoussées par les AGs saturés alors que les adultes sont repoussés par les AGs insaturés et sont indifférents aux AGs saturés. Il a été suggéré que cette évolution des préférences pourrait refléter des besoins métaboliques différents chez la larve et chez l'adulte.

Durant ma thèse, j'ai étudié les conséquences, intra- et intergénérationnelles, d'une exposition à un milieu enrichi en AG saturé (acide stéarique = C18:0) ou en AG insaturé (acide oléique = C18:1), sur les préférences larvaires et adultes (choix du site d'oviposition) ainsi que sur différents traits de vie. L'évolution des préférences larvaires et adultes pour ces deux AGs à l'aide de deux procédures de sélection a également été abordée.

Les résultats obtenus montrent que, si les processus de sélections ne modifient pas durablement les préférences des individus envers les deux AGs utilisés, le comportement d'individus exposés, soit ponctuellement durant leur développement, soit de manière permanente sur une à dix générations, est affecté par cette exposition. Le choix du site de ponte par les femelles est modifié spécifiquement suite à une exposition au C18:0 ou au C18:1 durant leur développement larvaire. Si l'influence d'une expérience sensorielle précoce sur les préférences alimentaires de l'adulte avait déjà été mise en évidence chez certains mammifères et quelques insectes holométaboles (dont le système nerveux est presque complètement remanié durant la métamorphose), c'est la première fois qu'un tel phénomène est clairement démontré chez la *Drosophile*. Nous avons pu montrer qu'une exposition permanente à chacun des AGs modifie durablement à la fois les préférences d'oviposition et certains traits de vie majeurs (durée de développement, sex-ratio, fécondité et survie adulte). Ces résultats suggèrent que la *Drosophile* est capable de s'adapter à des nourritures variées et que cette plasticité, vraisemblablement déterminée génétiquement, pourrait expliquer le succès de cette espèce généraliste. Outre leur intérêt "écologique", ces observations démontrent l'intérêt du modèle *Drosophile* pour l'étude de la plasticité intra- et inter-générationnelle des préférences envers les AGs.